国外优秀教材

THE NEURON

CELL AND MOLECULAR BIOLOGY

神经元：细胞和分子生物学 第二版

〔美〕I. B. 莱维坦
L. K. 卡茨玛克 著

舒斯云
包新民 主译



科学出版社

(Q-1036.0101)

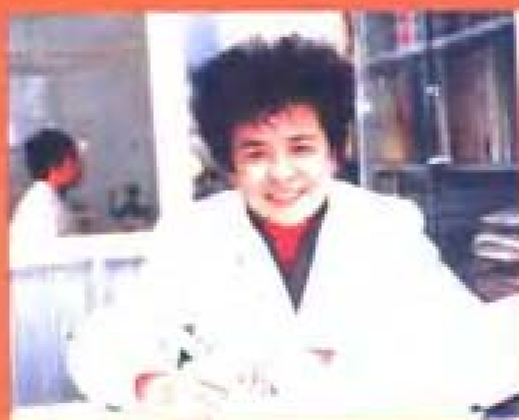
生命科学编辑部
联系电话：010-64012501
http://spbio.yeah.net
e-mail:spbio@163.net

THE NEURON

神经元：细胞和分子生物学

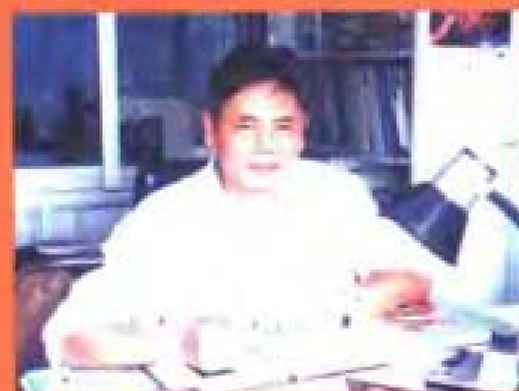
第 [illegible] 版

译者介绍：



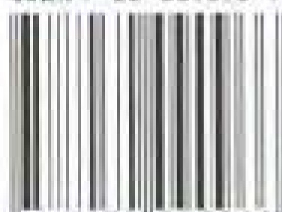
舒斯云，女，1937年生，1956年毕业于第四军医大学，现为第一军医大学神经科学研究所所长，神经生物学研究室主任，教授，博士生导师，广东省神经科学会理事长，广东省科协委员，中国神经生物物理专业委员会副主任，中国神经科学学会理事，美国神经化学研究杂志(Neurochemical Research)编委，军医大学医学杂志英文版编委。

从事脑和脊髓神经联系以及胶状体的结构和功能研究40余年，曾在国内外杂志发表论文100余篇，主编《大白鼠脑立体定位图谱》，曾先后获1995年国家发明二等奖，各种军队科技进步二等奖等各种奖励共13次。



包新民，男，1933年生，1956年毕业于沈阳中国医科大学，现为第一军医大学神经科学研究所教授，广东省神经科学学会秘书长，中华医学杂志英文版通讯编委，解剖学研究编委等。

长期从事脑边缘系统及胶状体等的研究，曾在国内外杂志发表论文100余篇，主编《大白鼠脑立体定位图谱》(1991)，获得国家发明二等奖(1995)及军队科技进步二等奖(1999)等多项奖励。



ISBN 7-03-009096-9/Q · 1036
定 价：56.00 元

1030504

神 经 元

细胞和分子生物学

〔美〕 I.B. 莱维坦 L.K. 卡茨玛克 著
舒斯云 包新民 主译

科 学 出 版 社
2001

内 容 简 介

本书是一本有着广泛影响的神经生物学名著。它从细胞及分子生物学的角度，介绍了脑的结构和活动规律，论述了神经细胞及神经胶质细胞的细胞生物学特征、细胞内和细胞间的信息传导、神经发育和可塑性等等。读者在掌握了本书的内容后，就能较容易地对神经系统的结构、发育、生理、行为等开展专门研究。

本书可作为神经生物学的研究生教材，也可作为从事神经科学研究的科学工作者的参考书。

图字 01-1999-2151

图书在版编目(CIP)数据

神经元:细胞和分子生物学/〔美〕莱维坦(Levitan, I. B.),〔美〕卡茨玛克(Kaczmarek, L. K.)著;舒斯云,包新民主译.-北京:科学出版社,2001.9

ISBN 7-03-009096-9

Ⅰ.神… Ⅱ.①莱… ②卡… ③舒… Ⅲ.①人体－神经元－细胞学 ②人体－神经元－分子生物学 Ⅳ.R338.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2000)第 87558 号

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

http://www.sciencep.com

源海印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2001 年 9 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2001 年 9 月第一次印刷 印张:28

印数:1—3 000 字数:642 000

定价:56.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换(新欣))

参加翻译人员

舒斯云　第一军医大学神经科学研究所所长、教授
包新民　第一军医大学神经科学研究所教授
李胜修　第一军医大学神经科学研究所副教授
高天明　第一军医大学生理教研室主任、教授
王子栋　暨南大学医学院生理教研室教授
刘振华　第一军医大学珠江医院神经内科副主任、副教授

序　　言

神经科学是一门以研究神经系统特别是脑的结构和功能的跨学科的新型学科。它集中了不同学科的先进技术和成就。特别是20世纪90年代被国际上命名为“脑的十年”后,取得了许多重大的进展。但脑是人体中结构和功能最复杂、而对它了解最不透彻的器官。有许多诱人的奥秘等待着人们去探索和发掘。由于脑结构和功能的复杂性,对刚开始从事神经科学研究工作的年轻科学工作者来说,迫切需要一些好书来学习,并作为对神经系统进行研究的入门参考。

由舒斯云教授和包新民教授主译的《神经元:细胞和分子生物学》一书,从细胞及分子生物学的角度,介绍了脑的结构和活动规律,介绍了神经细胞及神经胶质细胞的细胞生物学特征、细胞内和细胞间的信息传导、神经发育和可塑性等20世纪90年代的最新信息。热爱神经科学的年青科学工作者在掌握了本书的内容后,能较容易地对神经系统的结构、发育、生理、行为等进行专门研究。因此,本书可作为神经生物学的研究生教材,也可为从事神经科学研究的科学工作者提供一本系统介绍细胞及分子神经生物学的参考书。

随着神经科学的飞速发展,世界各国的医学院校都开设了神经生物学这门课程。也出版了一些神经生物学教科书。我国已有《神经科学原理》等几部教科书出版,各有特点和侧重。现在出版的这本书,从了解每个神经元的特性入手,阐明动物产生行为的方式,将神经系统的形态、机能和细胞、分子生物学有机地结合起来。本书内容深入浅出,插图简洁明快。希望这本书的出版会对推动我国的神经科学研究和教学做出有益的贡献。

中国科学院院士

北京大学神经科学研究所所长

2000年5月

前　言

自从《神经元》第一版出版以后的5年来，神经科学有了巨大的进展。神经科学成为现代生物学中最有活力的研究领域之一，用细胞和分子生物学的手段去理解脑的机能正主导着这个方向。细胞和分子神经生物学以有基础细胞和分子生物学的其他领域一样，取得了令人振奋的进步，这有助于我们去理解神经细胞的功能。实际上，我们在本书的第一版中曾强调脑细胞的特性和其他细胞是共同的，随着时间的推移，这些特征变得越来越明显了。

神经科学的飞速发展使我们对《神经元》第二版作了彻底的修改。原来的第一章被充分扩充并分为独立的两章，以强调神经元及胶质细胞的细胞生物学特征，以及它们和其他类型细胞的共性。细胞内通讯部分也经扩充并重新组织。在本书中我们介绍了在早期阶段作为特殊的膜蛋白的离子通道的概念，使作为特殊离子通道蛋白特性的选择性膜通透性的概念易于理解。我们还强调了电压依赖性离子通道的惊人的多样性，这在近年来已被证明。同时讨论了这种多样性对神经元的生理学意义。在细胞间通讯部分，神经递质分泌的章节已经重写，以反映对分泌的理解的新水平，这是通过许多分子成分在囊泡融合及胞吐作用中的证据得出的结果。来自包括低等的真核细胞在内的许多细胞的信息进一步帮助我们增进对分泌的理解。细胞间通讯部分的其余章节，也已经彻底修改，包括大量有关谷氨酸受体克隆和特性的新信息，以及描写神经元及其他细胞的细胞内信号通路的新内容。最后，本书最后部分的实质性修改反映了过去5年来发育及可塑性的细胞及分子水平研究卓有成效的事实。由于越来越多的对神经发育及成年可塑性很重要的分子本质已被证明和定性，从前只能在描述水平上研究的现象现在已能从分子细节上去理解了。

这是一个令神经科学者兴奋的时刻。如同我们写《神经元》第一版时，我们高兴地从我们的朋友及同事们那里，以及从迅速成长的细胞和分子神经生物学文献中，学习到许多新的知识。非常感谢所有帮助过和鼓励过我们的人们，尤其要感谢我们的助手 Joyce Chase 和 Paula Shelly，他们为我们处理了无数的细节工作，以及牛津大学出版社的编辑 Jeffrey House，他经常鼓励我们并提出建议。第一次写这本书是很有兴趣的，第二次写也是饶有趣味的。我们甚至可能考虑再来写一次。

I.B.莱维坦
L.K.卡茨玛克
1996年夏

第一版前言

神经科学的基本目的是理解神经元产生动物行为的方式。这就需要了解许多神经元如何控制一个特殊行为，这些神经元位于何处，以及它们是如何连接的。但是，如果我们不了解每个神经元本身的内部特性，所有上述信息都是没有用的。正如每一个人对社会提供他或她的一份贡献，神经元环路中的不同细胞的性质、能力及个性都在该环路的效应中起作用。它们也决定效应如何随着时间的变化而改变一个动物的行为。

神经科学已届成年。它的从业人员不再单纯是那些偶而遇到脑的问题并决定研究它的生理学家、生化学家和解剖学家的大杂烩。神经科学本身已是成熟的学科，这可从几本神经生物学教科书的出版得到部分证明。有些教科书是针对医学生的，而另一些是为研究生设计的，介绍了神经生物学领域广泛的概貌。这样的处理必须在深度的扩展时强调广度。我们试图寻找一本教科书，能够用来和学生们详细地交流细胞和分子神经生物学的原则，但是落空了。因此撰写了这本书。

这本书反映了我们自己的训练、研究兴趣和偏爱。这是一次公开的简化，和我们理解神经系统组分的信念相一致即调节神经活动的各个神经元及分子，对即使是最初级地理解脑的活动也是重要的。我们认识到，虽然对单个组分的理解是重要的，但其本身对完整地描述脑机能是不够的，我们在神经系统机能的内容中适当地加入了细胞和分子水平的原理。然而，基于上述理由，我们宁愿强调深度，而不倾向成为包括神经科学所有内容的详尽教科书。相反，本书被设想成为一本细胞和分子神经生物学的初步教材，提供给已经具有生物化学及细胞生物学基本知识的大学生或低年研究生使用。学生们掌握了本书的材料后，能够容易地继续攻读神经系统、发育、行为及计算神经生物学的专门课程。

我们从写这本书中得到了乐趣。它给了我们机会去和激情四溢的同事们进行涉及专门知识的交流，从他们那里我们学到了很多东西。他们中的许多人读过部分手稿，并指出(偶尔很高兴地)我们的错误概念及不明朗的写作风格。Eve Marder, Chris Miller 和 Jimmy Schwartz 承担了阅读本书全部内容的艰巨任务，他们的建议是无价的。读过部分(有时很多)章节的其他人包括 Spyros Artavanis-Tsakonas, Bill Catteral, Arlene Chiu, Martha Constantine-Paton, Pietro DeCamilli, Dorothy Gallager, Scott Kasner, John Lisman, Joanne Mattessich, John Perkins, Jan Rosenbaum, Larry Squire 和 Kate Turtle。我们感谢他们每个人。第三章中静息和动作电位的许多处理的灵感来自 Chuck Stevens 多年前写的一本奇妙的小书，书名为《神经生理学：初级读本》(J. Wiley & Sons, New York, 1966)。我们也要感谢 John Dowling, Paul Forscher, Steven Hunt, Andrew Matus, Yom Reese, Bruce Schnapp, Toni Steinacker, Masatoshi Takeichi, Asa Thureson-Klein, Monte Westerfield, 特别是 Dennis Landis 为我们提供某些图的原始照片。Mike Lerner 给了我们图 13-16a 的有不同气味物质的主意及它们的化学结构。Maureen Ferrari 和 Joyce Chase 在计算机操作及处理无数的行政事务方面付出了勤勤恳恳的工作，Paula Shelly 协助准备了索引。我们和在牛津大学出版社的编辑 Jeffrey House 及其同事 Edith Barry, Donna

Grosso 和 Susan Hanman 的合作是愉快的。最后，我们感谢我们的朋友和同事们的鼓励，他们再三地告诉我们，细胞和分子神经生物学教科书是非常需要的。

I.B.莱维坦

L.K.卡茨玛克

1990 年 10 月

目　录

第一篇　绪论

第二第　神经元的电特性

第三第　细胞间通讯

第四篇 行为和可塑性

第一第

绪　论

本书的目的是描述能使动物完成指定任务的神经元的细胞和分子特性，这些特性使神经元在动物体内完成指定任务。在第 1 章中我们以简要回顾**神经元信号传导**（neuronal signaling）作为开始，以强调神经元的基本功能是信息传导。它包括**细胞内**（intracellular）信号传导，即由神经元的一部分传导至另一部分，以及**细胞间**（intercellular）信号传导，即由一个神经元传递至另一个神经元或肌细胞。第 2 章描述**神经元和胶质细胞生物学**（neuronal and glial cell biology）特性。我们在此强调神经元和生物中其他类型细胞具有许多共同的特性，但同时神经元已被高级特殊分化而担当信息传导功能。例如**细胞骨架**（cytoskeleton），是所有细胞内都有的细胞支架，在神经元的结构和形态维持中起着极为重要的作用。每一主题的细节在以后的章节中将有更详细的描述。

1
脑的信号传导

告诉我想象力来自何处，是脑还是心？

尽管莎士比亚在16世纪末曾问过这个问题，至少对某些人来说，答案在两千年以前就已经知晓了。许多古希腊学者如希波克拉底（Hippocrades）和柏拉图（Plato）认为脑在某些方面是非常特殊的，它负责人和其他动物的各种行为。我们现在坚信脑是从环境中获取信息，处理和贮存这些信息，并产生行为的器官。此外，正是脑负责一些无明确定义的行为，如各种感受、愿望、抽象思维，这些特性在我们看来（尽管有些过分自傲）是人类所特有的。脑的疾病常与年龄有关，随着人类寿命的延长，发病率也随之增加，引起个人、家庭和整个社会无法估量的痛苦。因此，实质上是大脑使我们成为人类，而其他器官只是在维护和支持大脑。由于这个原因，对大脑功能生物学的理解是现代科学的一个主要目标。大脑是生物科学最后的重要前沿之一，解开脑的奥秘在复杂性和对智力的挑战上可与研究物质的基本粒子和探索空间相媲美。

结构水平

人们可从不同的**结构水平**（level of organization）上研究神经系统的功能（图1-1）。

生化和分子生物学家研究对执行大脑功能具有重要意义的分子特性。生理学家可研究单个神经细胞或功能上相关细胞群。行为心理学家可从无脊椎动物到人类的实验动物模型上探讨行为的类型和变化——学习。计算神经科学家们试图用分子、细胞和细胞群的已知特性从总体上去模仿脑的高级功能。

在本书中，我们将主要讨论图1-1中的上方部分，即脑的细胞和控制脑细胞功能的分子。尽管我们将会适当地讨论属于神经系统的这些细胞和分子，但我们将主要着眼于细胞内或细胞间的**信号传导或信息传递**（signaling, or information transfer）。我们将会明白信号对于生物①感受环境中的信息；②将信息传导至对其进行处理的大脑和③产生行为反应是至关重要的。在第3到第6章中，将探讨神经细胞的**细胞内信号传导**（intracellular signaling）的方式，即信号由细胞的一部传导至它的另一部分的途径。第7到第13章将讨论**细胞间信号传导**（intercellular signaling），即神经细胞间互相联络及其与周围环境联络的机制。最后，在第14章到18章中，我们将论及**神经元可塑性**（neuronal plasticity），即神经元性质的变化。本章将包括**发育**（development）过程中的细胞和分子方面的内容，即在胚胎和出生后不久神经细胞定形和确定联络型式（和信号传

导）的过程。此外还将讨论**行为**（behavior）和它在单一细胞，细胞群和行为动物的信号水平上的改变。

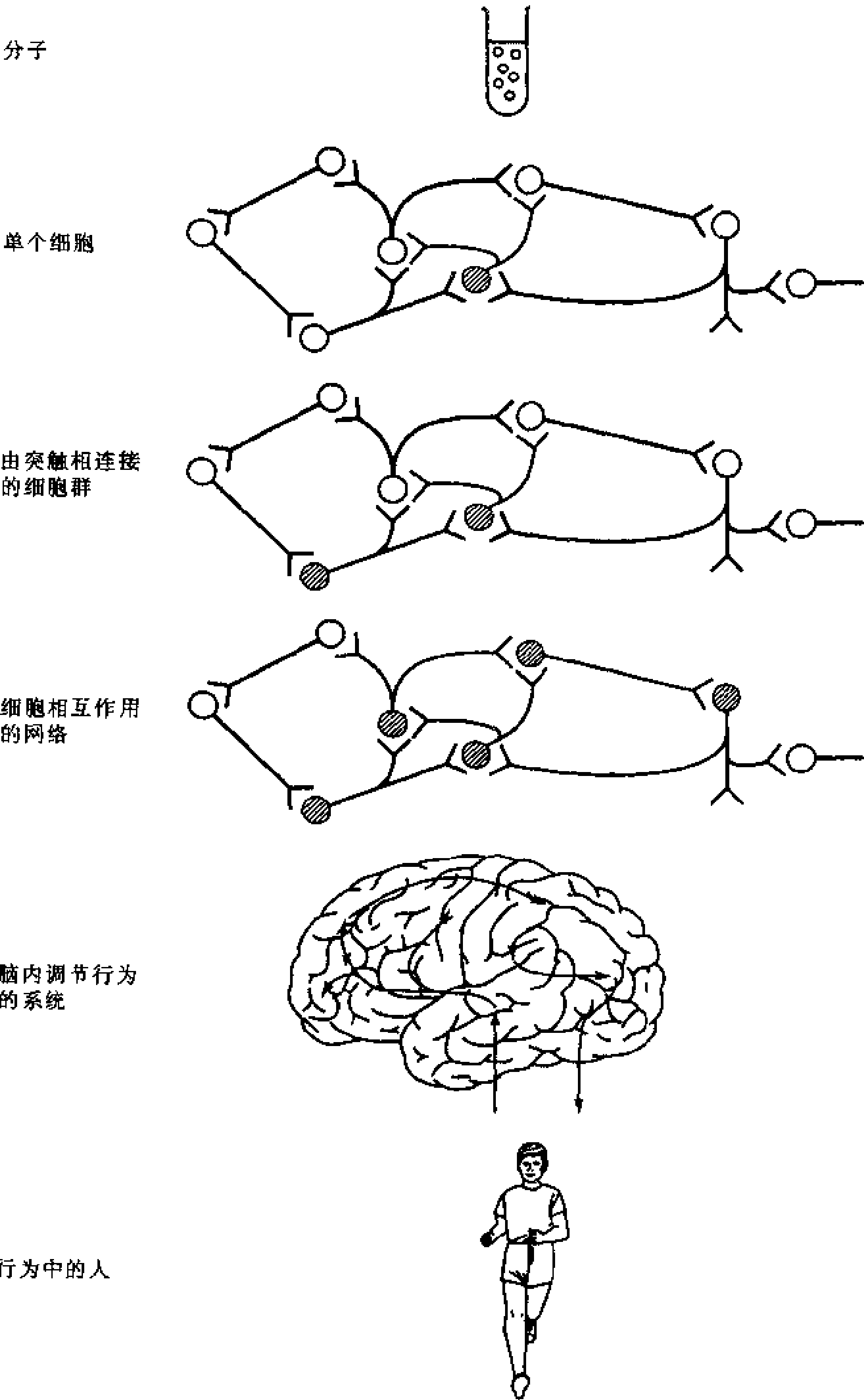


图 1-1 研究神经系统结构和功能的不同结构水平。根据背景和所受训练的不同，不同的科学家可采取不同的途径去研究神经系统。

尽管我们着眼于脑功能的分子和细胞机制，但要强调的是细胞和分子神经生物学并不存在于真空中。首先，我们将要讨论的脑细胞的许多机制也存在于其他类型细胞中，细胞生物学的普遍性是非常明显的。其次，已很明显的是对脑的理解需要如图 1-1 所示，在从有行为的人类到单一细胞，以及控制细胞活动的分子的不同水平上进行研究。从本质上讲，没有一个水平的研究比其他任何水平的研究更重要。即使是对一个最基本的正常或异常脑功能的理解，也需要来自各个层次水平的研究所得的信息。所以，就其本质，这个问题的解答需要多学科的联合攻关，它包括联合传统的各个学科，并促进受过不同训练和掌握不同实验技术的科学家们的合作。历史已明显证明在学科间的边缘部有可能做出最有意义的突破。

细胞假说

我们已习惯将脑看做是一个细胞性器官。而容易忘记在不久前，这一观点还是一个引起剧烈争论的问题。直到 1840 年，由于解剖学家 Jacob Schleiden 和 Theodor Schwann 的工作，才明确被称为细胞的小实体是活组织的基本结构单位。然而，在这一原理被认为也适合于脑组织前，又经历了 50 多年。在 19 世纪末，伟大的神经解剖学家 Santiago Ramón y Cajal 和 Camillo Golgi 还在激烈地争论大脑是由大量独立细胞所组成的还是一种连贯的**合胞体**（syncytium）组织。对这个问题的回答当然对于理解信号由神经系统的一部分传导至另一部分是十分重要的。Ramón y Cajal 巧妙地采用了一种由 Golgi 艰苦发明的方法对脑组织进行染色。由于至今仍不明白的原因，这种被称为银染法的技术仅可使脑切片中一小部分神经元染色。结果，在含有大量神经元的脑组织切片中可清楚显示单个神经元（图 1-2）。采用其他染色方法时所有神经元都染色，这些切片看来就像一片缠结的“灌木丛”。Ramón y Cajal 正确地确认了这些独立的个体是单个的神经细胞，但 Golgi 从未接受过这种解释，仍在继续提倡他的连续连接的“网状”理论。在这场争论中，最后是细胞学说的倡导者们获胜。脑和其他组织一样是细胞性的组织现已被普遍接受。回头看来，在这一问题上存在如此长久的疑惑的原因就是因为脑组织的复杂性。正如我们将在本书中看到的那样，脑中存在大量不同类型的细胞，它们中的许多细胞具有不对称的三维结构，使人非常难以确定何处是一个细胞的止点和另一个细胞的起点。

神经元的独特结构

尽管在下一章中也将讨论神经元拥有哪些与其他细胞一样的结构和细胞器，在本章中我们将主要着眼于神经元独有的结构。但必需记住的是神经系统的基本功能是**信号传导或信息传递**，既有由细胞的一部分传至另一部分的细胞内信号传导，又有细胞之间的细胞外信息传导。细胞神经生物学的一个根本前提，是通过下列研究去充分了解神经系统是如何工作的。

（1）神经元结构中被特异化用于信息传递部分；

（2）神经元细胞内信号传导的机制；

（3）神经元连接的型式和细胞间信号传导机制；

(4) 各种神经元的连接型式和不同行为的关系；

(5) 神经元和它们连接能被经验修饰的方式。

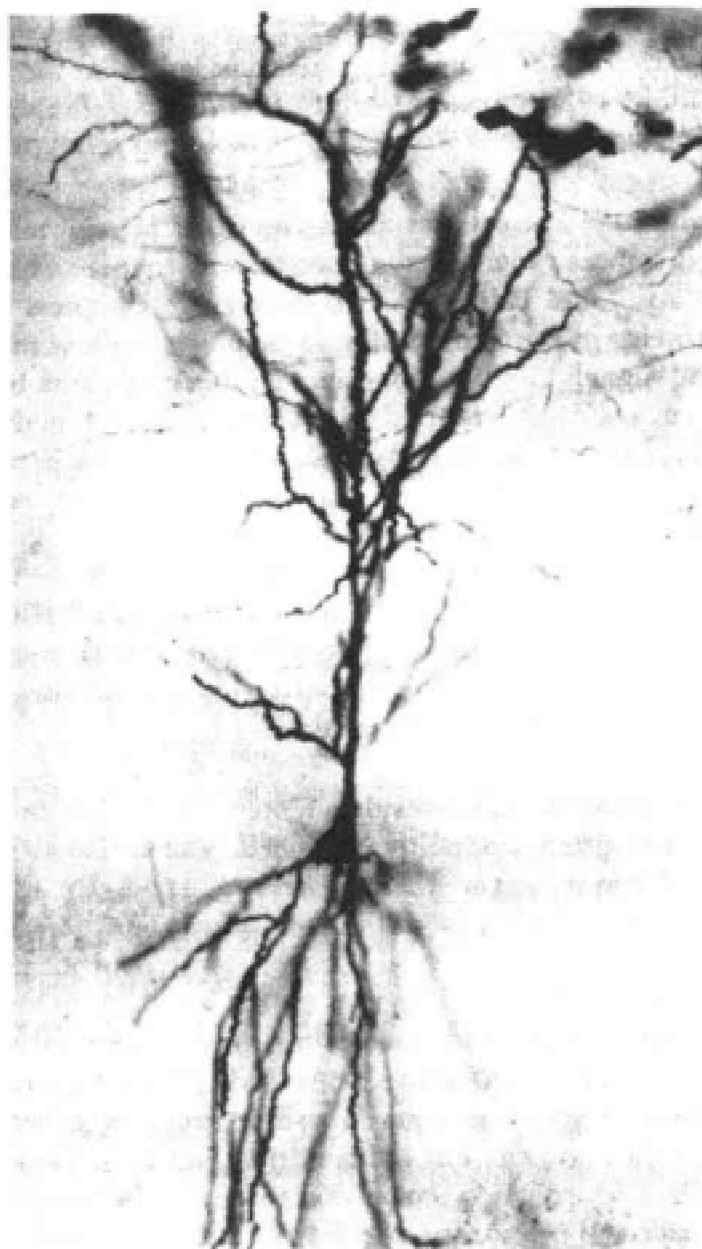


图 1-2 海马中单个 Golgi 法染色的神经元。Golgi 法显示的海马锥体神经细胞的胞体形状和它的复杂树突丛，可从 Golgi 法染出的许多神经元形成的“缠结灌木丛”中显示出来（显微照片由 Kristin Harris 惠赠）。

在本书中将讨论上述所有的内容。我们首先讨论神经元所独有的三个结构成分：**轴突**（axon）专用于细胞内信息传导；**树突**（dendrite）是从其他神经元接受信息的部位；而**突触**（synapse）则是三者中最高度特异化的结构，是神经元间的信息传导的部位（图 1-3）。

轴突　发自神经元胞体的纤细管状突起，在终止前（终于突触，见下文）可延伸长达数微米到数米的距离。在第3到第6章中我们将看到，轴突胞浆膜上的特异性蛋白可使电信号沿轴突长轴快速传导，即从细胞体到轴突终末。轴突发自神经元胞体上的一个被称为**轴丘**（axon hillock）的锥形挡厚部（图1-3）。轴突在终止前一般不分枝（并非总是如此），但在终止前常有多个分枝。轴突的直径在其全长中几乎不改变。其形状和树突一样是由**细胞骨架**（cytoskeleton）构成和维持的，细胞骨架存在于所有细胞，但在形状特殊的细胞如神经元中显示出一些独特的性质。细胞骨架对形成和维持神经元形状的作用将在第2章中做简要叙述。

树突　作为神经元的突起，它比轴突要粗和短，常有多重的分枝，形成致密的突起网，此网被称为**树突树**（dendritic tree）（图1-3）。此外，树突的细胞骨架与轴突也不一样（见第2章）。树突常发自神经元的胞体，但在无脊椎动物的一些神经元它可发自轴突的近端。利用**共聚焦显微镜**（confocal microscope）上所得图像，通过电脑进行三维重建，可显示出在一些神经元的树突上存在着无数的指状突起或增厚区。它们被称为**树突棘**（dendritic spines），发自树突分枝的主干（图1-4）。这些树突棘是神经元从其他细胞接受信号的突触传入部位。同轴突一样，树突的胞浆膜也含有一些特殊的蛋白质，它们使树突能执行其既定的功能（见第10到第11章）。这些特殊的蛋白质能特化树突的胞浆膜，使树突能接受和整合来自其他神经细胞和从胞体其他部位传来的信息。然而，树突的功能并不只局限于接受信息。一些树突和轴突一样能传导电信号，在许多神经元中，信息的传入和传出都通过同一群树突样细小突起进行。

细胞间通讯

突触　我们已经强调过，信息从神经系统的一个部位传导至其他部位，产生的细胞间通讯是神经系统的基本功能。正是信息的传递使脑有别于其他器官，也就不奇怪神经元会进化出独有的高度特异化的结构——突触，去完成这个任务（图1-3）。突触一词源自希腊文字“连结”，由英国生理学家Charles Sherrington在19世纪末引用。Sherrington当时正在研究**脊髓反射**（spinal cord reflex）（图1-5）。这些反射是动物受到特定刺激后固定的行为反应。它们并不需要大脑的参与，只需通过脊髓进行。一个常引用的例子就是当手碰及热炉时会迅速缩回。

Sherrington对反射的研究正好与Ramón y Cajal和他的追随者们完成建立神经元学说同期。他确定了一组神经元的联系，即一个**通路**（pathway）负责这些反射，并且注意到在此反射通路中信号总是向一个方向传导。更具体地说，传入总是通过反射通路的**感觉**（sensory）部分（图1-5中的黑色部分），它能提供外界的信息。传出是通过**运动**（motor）部分（图1-5中的红色部分），它通过驱动肌肉对感觉传入产生适当的行为**反应**。Sherrington通过对解剖学和生理学的仔细研究，他确信反射通路不是单细胞性的，感觉部分和运动部分间存在着不连贯部分。在许多反射弧中，脊髓中还有被称为**中间神经元**（interneuron）的额外的神经元，它们联结着感觉和运动神经元。

由于他的洞察，Sherrington认为在感觉和运动神经元间可能存在着一种允许神经

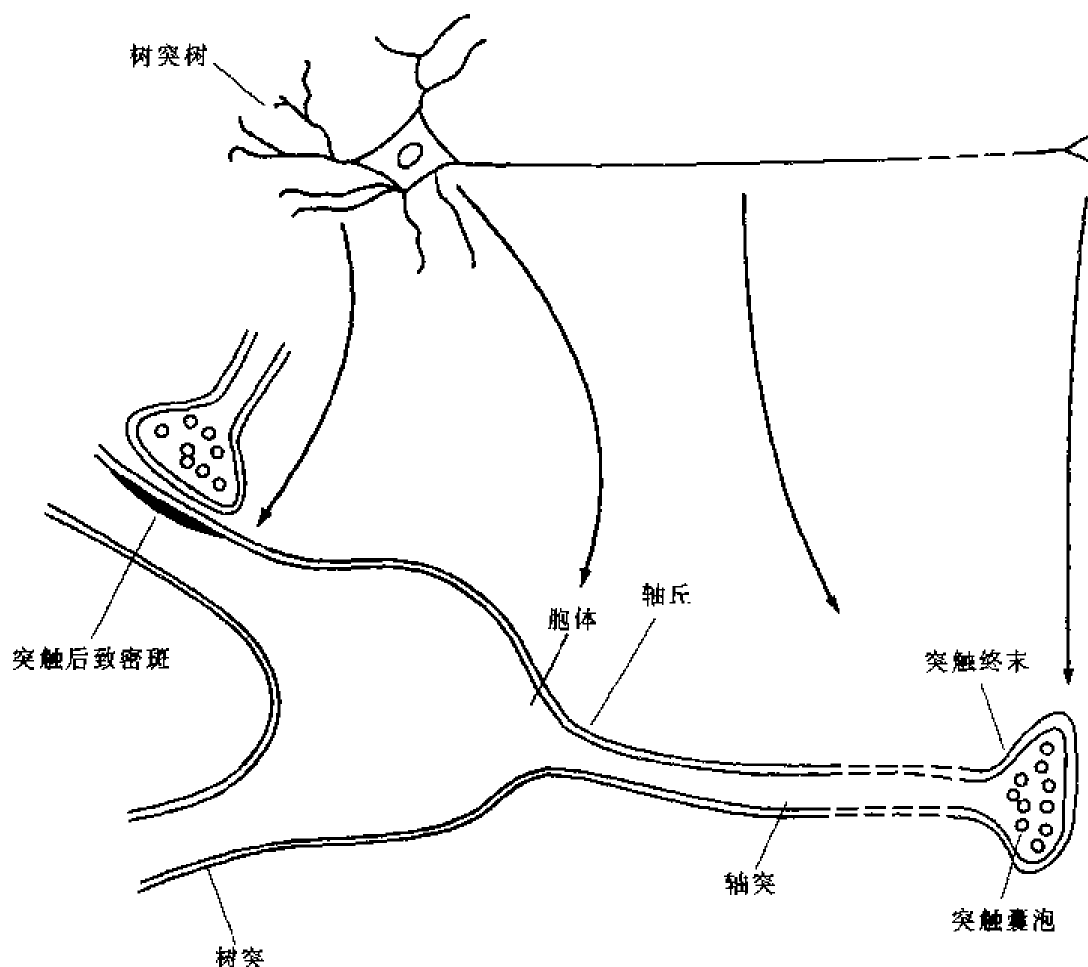


图 1-3 神经元的超微结构。一个典型神经元的图画，显示它的整体形状。

元间信息单向传递的结构——突触。需要强调的是 Sherrington 有关突触的定义只是功能上的，直到许多年以后这种功能上的连结才从解剖上得以确定。

Sherrington 的先驱性工作使人确信只有了解突触结构和功能才能理解大脑是如何工作的。细胞神经生物学对突触的重视持续了整个 20 世纪。现在我们已知突触性传导（信息在突触的传递）的强度并不是固定的。这与沿轴突的信息传递不同，轴突的传导就像我们将看到的一样，对任何强度和目的都是**全或无**（all-or-none）的。所以，现代神经生物学普遍认为，突触性质的改变是包括学习记忆等神经系统的功能可塑性的基础（见第四篇）。此外，现已明确突触功能的异常与许多致残性疾病有关，它们包括帕金森氏病，躁狂－抑郁症和精神分裂症。随着人们对突触结构和功能了解的增加，将会可能设计出合理的治疗方法治疗这些疾病，但至今缺乏成功的记录，意味着人们还将进行长期地探索。上述原因加上人们急欲了解神经系统内细胞间联络方式的智力挑战，正在继续推动人们对突触传导的研究。

两种突触　在 20 世纪的前半叶，有关突触信息传递的性质存在巨大的争论。以 Sir Henry Dale 为首的神经药理学家们坚持突触传输（transmission）是由一个神经元轴

突末端（**突触前细胞**，presynaptic cell）释放的化学物质所介导的，它作用和影响后继神经元或肌肉的特性（**突触后细胞**，postsynaptic cell）。这个概念的第一个有说服力的证据来自对蛙神经-肌肉突触的研究。早已知道电刺激迷走神经可使心率减慢。在 1921

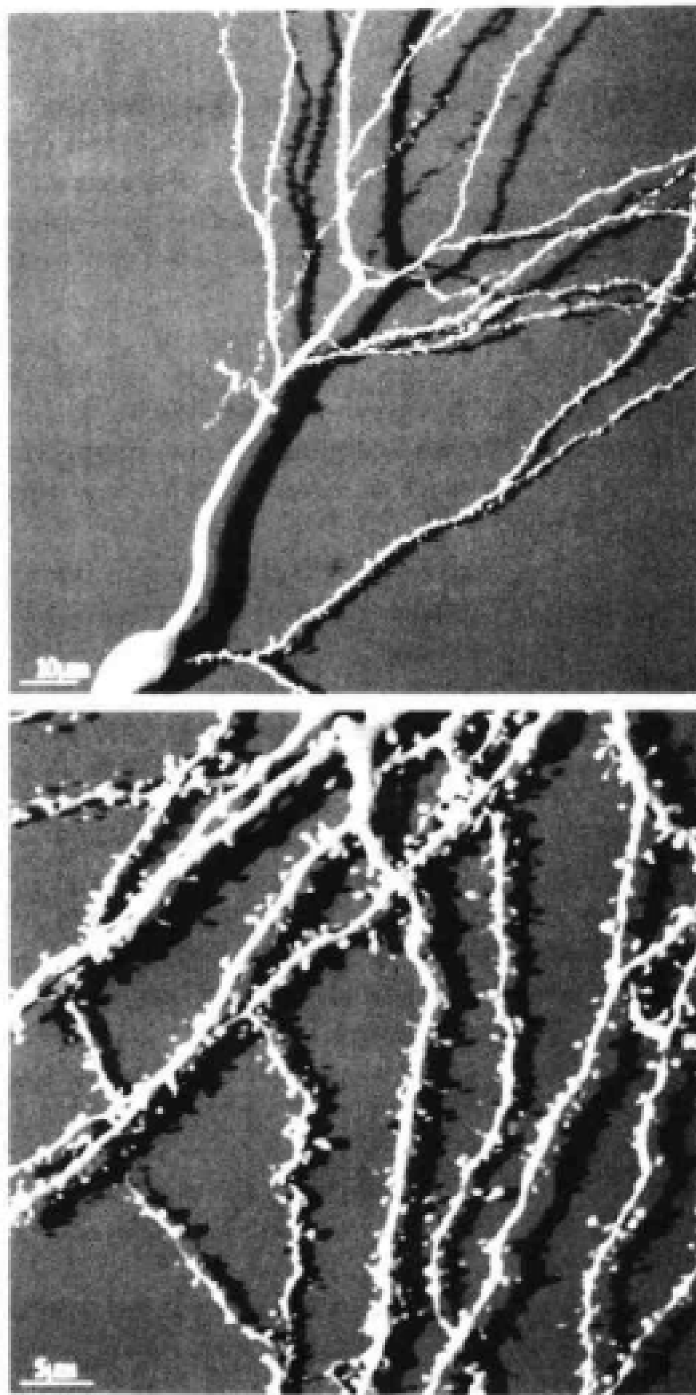


图 1-4 树突棘。一个海马锥体细胞的计算机三维重建图，锥体细胞内注射 Lucifer 荧光黄染料，用共聚焦显微镜摄像。注意棘状突起发自顶端树突（上图）。树突和棘状突起的高倍图像在下图中显示。图由 Anne McKinney，Scott Thompson 和 Beat Gähwiler 惠赠。

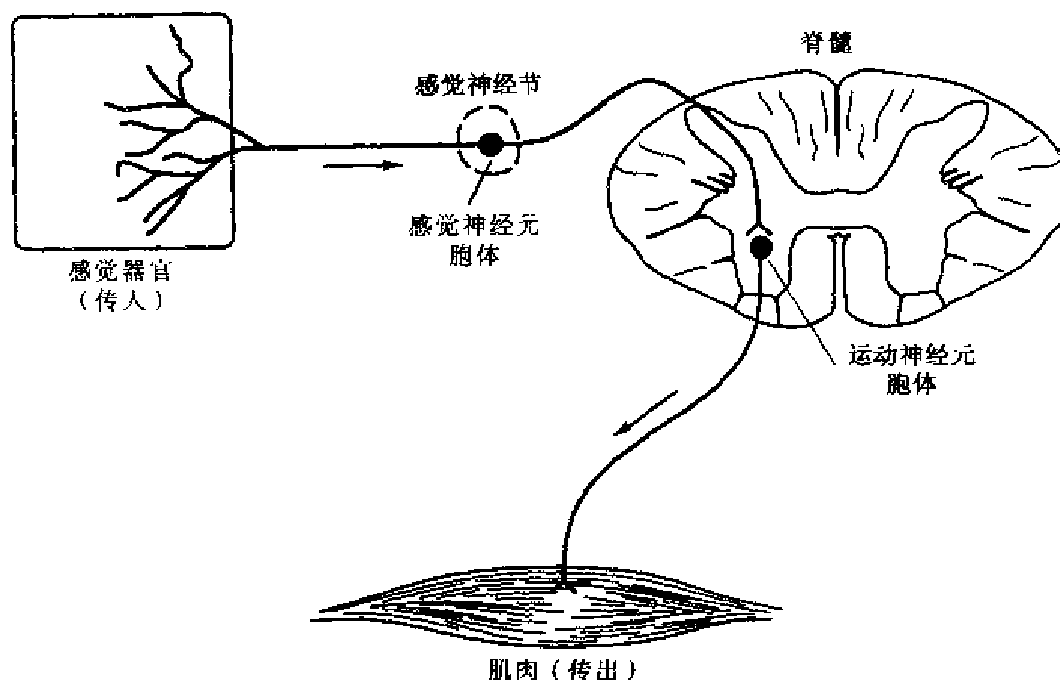


图 1-5 一个反射弧。具有传入性感觉神经元和传出性运动神经元的经典反射弧。箭头指出了反射通路中信息传导的方向。

年进行的经典试验中，奥地利药理学家 Otto Loewi 将一个带迷走神经的蛙心放入一盛有生理盐水的容器内，将容器与另一个已放入去迷走神经支配蛙心的容器相连（图 1-6）。试验设计允许放入心脏的两个容器中的生理盐水可自由交换。然后，他刺激迷走神经，结果蛙心率减慢。Loewi 注意到在延迟一段时间后，第二个心脏的心率也减慢了。他正确地确认刺激迷走神经后释放的化学物质导致了心率的减慢，这种化学物质随着盐水扩散到第二个容器并作用于第二个蛙心。引起该现象的化学物质后来被分离和证明是第一个被定义为**神经递质**（neurotransmitter）的乙酰胆碱。尽管这是个神经－肌肉突触，现已明确神经－神经化学突触也是以同样方式工作，而且乙酰胆碱是大脑和周围神经系统的一种重要神经递质。

电生理学家 John Eccles 提出了一个有力的与上述论点相冲突的观点，认为突触传递是电所介导的，由通过神经元之间直接物理连接的离子移动所形成的。后来又有大量的证据支持该论点。两学派的争论经常非常尖锐，因为各自都认为突触传递只有一个共同的机制。我们现在知道他们的这种看法是错误的，两种观点都正确。化学和电突触同时存在于多数神经系统中。

化学性突触和电突触的特性　尽管化学和电突触都介导细胞间的信息转换，但介导的机制是非常不同的。考虑区分可能承担不同功能的两种突触的特点是有意义的。我们对化学性突触的了解比电突触要多，但这可能只是反映历史的偶然而不是它们的相对重要性。许多年前就已有了进行化学性突触研究方便的实验方法，但直到最近才有了允许对电突触特性进行彻底研究的理论和技术。在此文中值得一提的是，我们对化学性突触的了解，有许多来自对脊椎动物**神经肌肉接头**（neuromuscular junction）的研究，而

不是神经元对神经元的突触（见图 8-1）。这部分是由于蛙坐骨神经－腓肠肌接头标本在实验准备上非常容易，远比复杂的中枢神经系统细胞网络中神经元到神经元的突触要容易得到（图 1-7）。此外，许多天才的研究者如伦敦著名的 Bernard Katz 爵士和他的合作者利用这种模型卓越地阐明了神经－肌肉间突触传递的细节。

因此，许多神经生物学家脑中的典型突触就是神经肌肉接头。现已明确这在许多方面是不合适的。比如，中枢神经系统内的许多突触，在时程的量级上比神经－肌肉接头要慢。在突触后细胞内，化学信息转换为电反应所涉及的分子机制也不同（见第 10 章和第 11 章）。尽管在后续的章节中，我们在讨论突触传递的各个方面时，仍不时要参考神经肌肉接头的研究，但是必需牢记上述防止误解的说明。

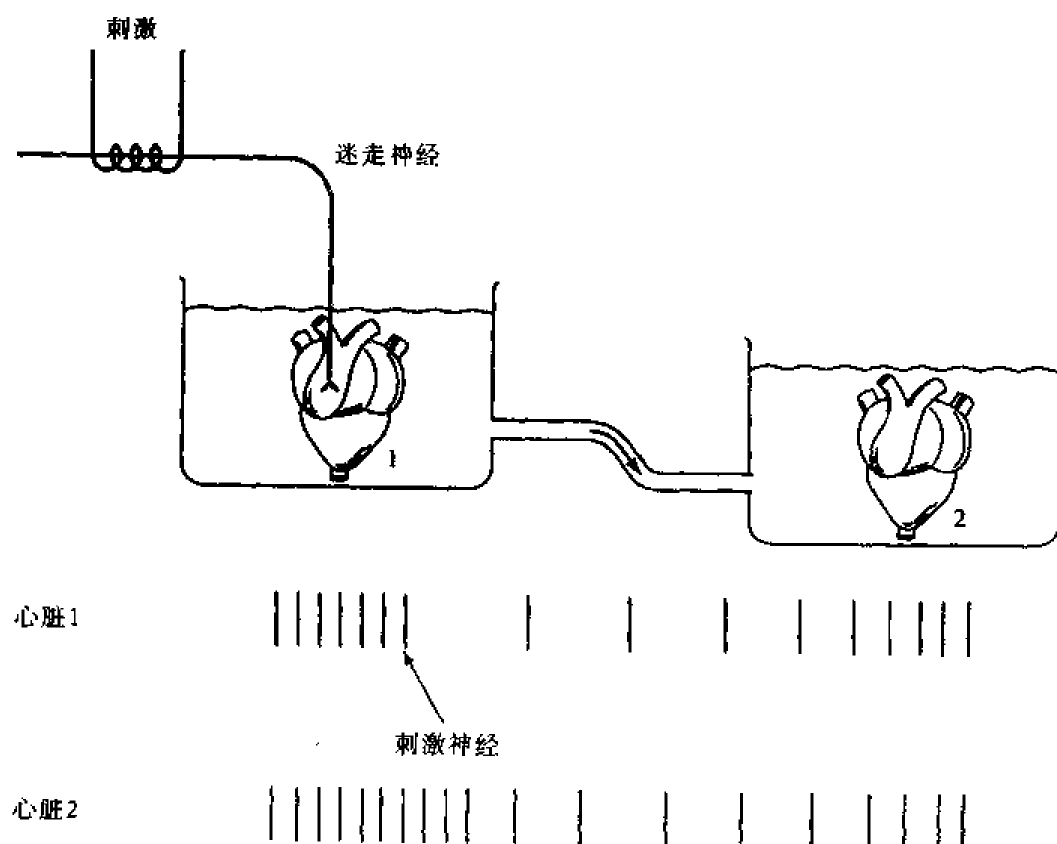


图 1-6 神经肌肉突触的化学传递。在 1921 年进行的这个著名实验中，Otto Loewi 将一个有神经支配的心脏（1）和另一个去神经的心脏（2）分别放在由生理盐水桥连接的两个分离容器中。在图的下部分，显示了有迷走神经支配的心脏（1）在受刺激前和受刺激后两个心脏的跳动频率。

化学性突触　在电镜下可观察到化学性突触和电突触在结构上的明显差异。化学性突触具有**不对称**（asymmetric）的形态，突触前和突触后的结构有明显的区分特征（图 1-3 和图 1-7）。突触前终端是轴突末端的膨大部分，含有线粒体，更重要的是含有大量的囊泡结构。就像将在第 7 章中讨论的，囊泡中含有能从突触前膜释放和能引起突触后细胞一些变化的神经递质，如乙酰胆碱。这些囊泡常簇集在靠近突触后膜的突触前膜附近（见图 1-7）。这种簇集可能和囊泡与细胞中特化的细胞骨架细丝的联系有关。

电子显微镜还显示了化学性突触的突触前、后膜之间存在着一个 200～300 Å 的突

触间隙（synaptic cleft）（见图 1-7）。该间隙比正常细胞间的细胞外间隙要略大。它的出现强调化学突触的突触前、后膜间并无直接的膜连结。结合糖的染色法表明突触间隙内

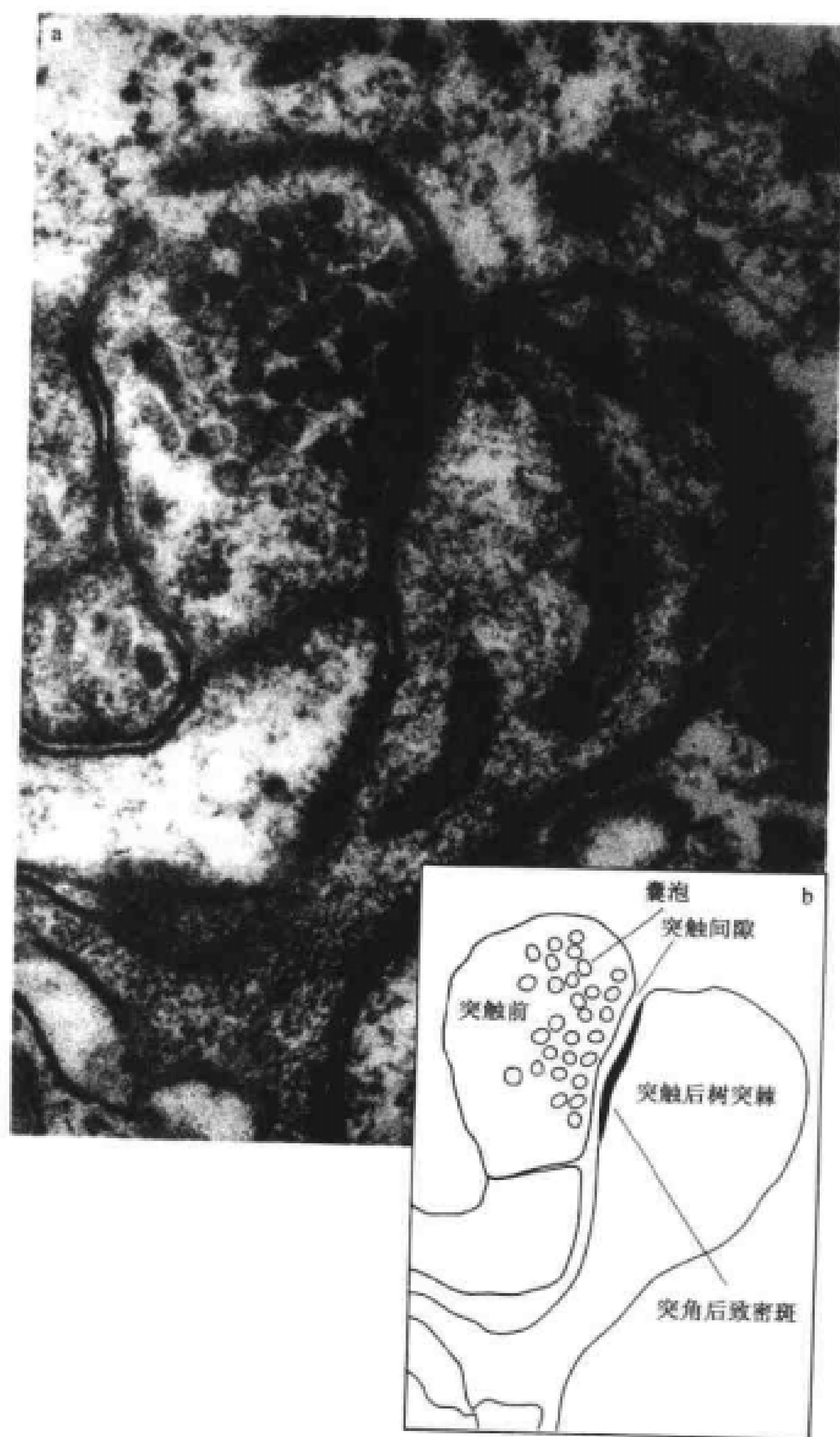


图 1-7　化学性突触。位于 Purkinje 细胞树突棘上的突触电镜照片（a）和描绘图（b）（取自 Landis 的显微照片，1987）。

存在碳水化合物，它可能与突触前、后膜上的糖蛋白相连。这种细胞外的碳水化合物的功能尚不十分清楚，但许多研究者都倾向于它与突触形成时细胞与细胞的确认有关（见第 16 章）。

就像多数突触前结构是轴突末端一样，绝大多数中枢神经系统中突触的突触后结构是树突。所以被称为**轴-树突触**（axodendritic synapses）。但也有例外，还有**轴-体突触**（axosomatic synapses）（突触后靶区为细胞体）和**轴-轴突触**（axoaxonic synapses）（罕见）存在。就像我们已提及的，有时树突也可充当突触前结构（树-树突触）。事实上，在一些神经元中存在着信息传入和传出的细小树突样突起。

其实多数中枢神经系统神经元的整个细胞体和树突表面都覆盖有突触前结构（见图 1-8）。换句话说，对于一个神经元来说，有自数百甚至数千的突触前细胞的**汇聚**（convergence）性信息传入（图 1-9）。在后续章节中，我们还将讨论到神经元经常要整合这些多突触的传入性信息。突触后结构的位置对于它对整个神经元的活动的影响是十分重要的。此外，当我们考虑到一个单一的突触前轴突可多次分枝并向数十或数百的突触后靶点提供信息（**扩散**，divergence，见图 1-9），就可设想即使中枢神经系统执行最简单的功能时也可估计到的复杂程度。

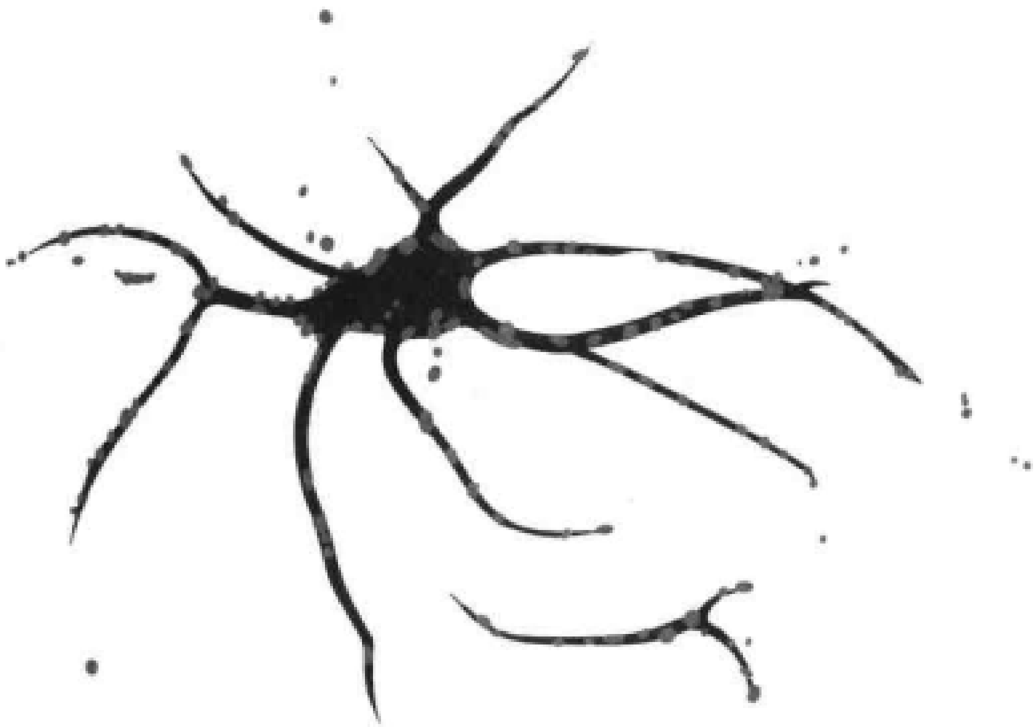


图 1-8 培养海马神经元上的汇聚性突触传入（浅灰色）。画自 Pietro de Camilli 的显微照片。

与突触前末端相反，突触后结构的特点是在胞浆膜的附近无突触囊泡。但具有高电子密度的结构——**突触后致密斑**（postsynaptic density），它与突触后膜相连，正对着突触前结构中突触囊泡的聚集区（图 1-3，和图 1-7）。这个和其他部位不同的特异结构的功能尚不十分清楚，可能有助于突触后膜上神经递质的受体定位，也可能将化学性信息转变为突触后膜内电反应的转导分子（见第 10 到第 11 章）。

伴随着形态上不对称性的是化学性突触的基本功能不对称：化学性突触是**单向**的

(unidirectional)。快速的信息传导只能从突触前细胞传向突触后细胞（图 1-5)。这和我们见到的多数电突触为**双向**（bidirectional）信息传递是截然不同的。此外，在化学性突触中，信息从到达突触前终端到传递至突触后细胞间，可能有 1 ms 或更长的延迟。这种延迟反映了化学性神经递质释放和发生作用的若干步骤所需的时间（见第 8 章)。此外，突触后神经元的反应要比引起其反应的突触前信号为长，有时可持续很长时间。引起靶细胞如此长时间改变的传导机制将在第 10 章和第 11 章中详细讨论。

电突触　化学性突触在形态和结构上的显著不对称性和电突触在形态上的对称性以及双向信息传递特征形成鲜明的对照。首先，没有可区分突触前和突触后结构的形态

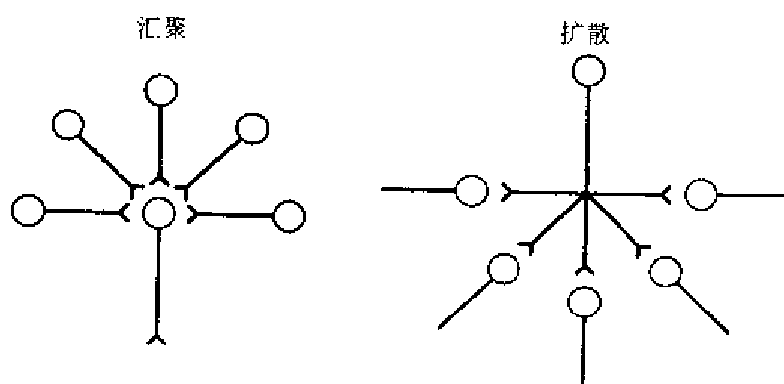


图 1-9　神经系统功能中的汇聚和扩散。左：任何一个神经细胞通过其树突可接收来自多达数千个的其他神经元的汇聚性突触传入。右：一个神经元的轴突可分枝多次，因此，这个神经元可将扩散性信息传送给大量的突触后靶点。

学特征。因为信号在电突触中可双向传导，在不同的时间，每一个细胞都可成为突触前和突触后结构。化学性突触用突触间隙分隔它的两个成分，而电突触的突触前、后膜间紧密接触。在这些膜中发现有**缝隙连接**（gap junction），细胞与细胞间的孔隙允许离子和小分子从一个细胞浆流向另一个细胞。缝隙连接存在于许多类型的细胞中。确定一对细胞间是否存在缝隙连接的试验是**染料偶联**（dye coupling）；即向一个细胞内注入一种低分子染料例如**荧光黄**（Lucifer Yellow）时，染料可迅速扩散到与它有突触连接的细胞浆内（图 1-10)。和其他细胞间的缝隙连接一样，分子量大约为 1000～1500 Da 的小分子可通过多数神经元的缝隙连接转移。缝隙连接的结构和功能将在第 7 章中更详细的讨论（见图 7-1 至图 7-3)。

通过细胞—细胞间缝隙连接的离子流动介导了电突触中细胞间的信号传导。这些通道为离子流提供了不扩散到细胞外去的细胞间低阻抗的通道，所以信号被传递时衰减很小。这种传递型式具有两个重要的功能特性。首先，就像上文谈到的那样，这种信息传递是双向的，**功能**上的对称伴随着**结构**上的对称。尽管有些电突触的传输性能一个方向比另一方向为强（即所谓的**整流性突触**，rectifying synapse)，事实上，第一个特性被详细研究的小龙虾的两个大型轴突间的电突触，就具有很强的方向性。但从整体上来讲，传导的双向性规律仍受到支持，而且是判定是否为电突触的一个重要标准。这种传递机

制的第二个特性是传递快速。没有化学性突触传递中所见到的延迟现象。

中枢神经中电突触连接的分布范围仍不清楚。电突触被广泛接受的一个功能是一大群神经元电活动的同步化。例如，在脊椎动物和无脊椎动物中，能分泌神经递质和激素的许多神经分泌神经元，已被证实被电突触广泛连接。同时记录这种神经元群中的数个神经元，显示它们的全部电活动是同时进行的，可能会导致它们一齐释放神经递质。在视网膜中也发现有大量的电突触，它们可能影响视觉信息在视网膜中的处理。

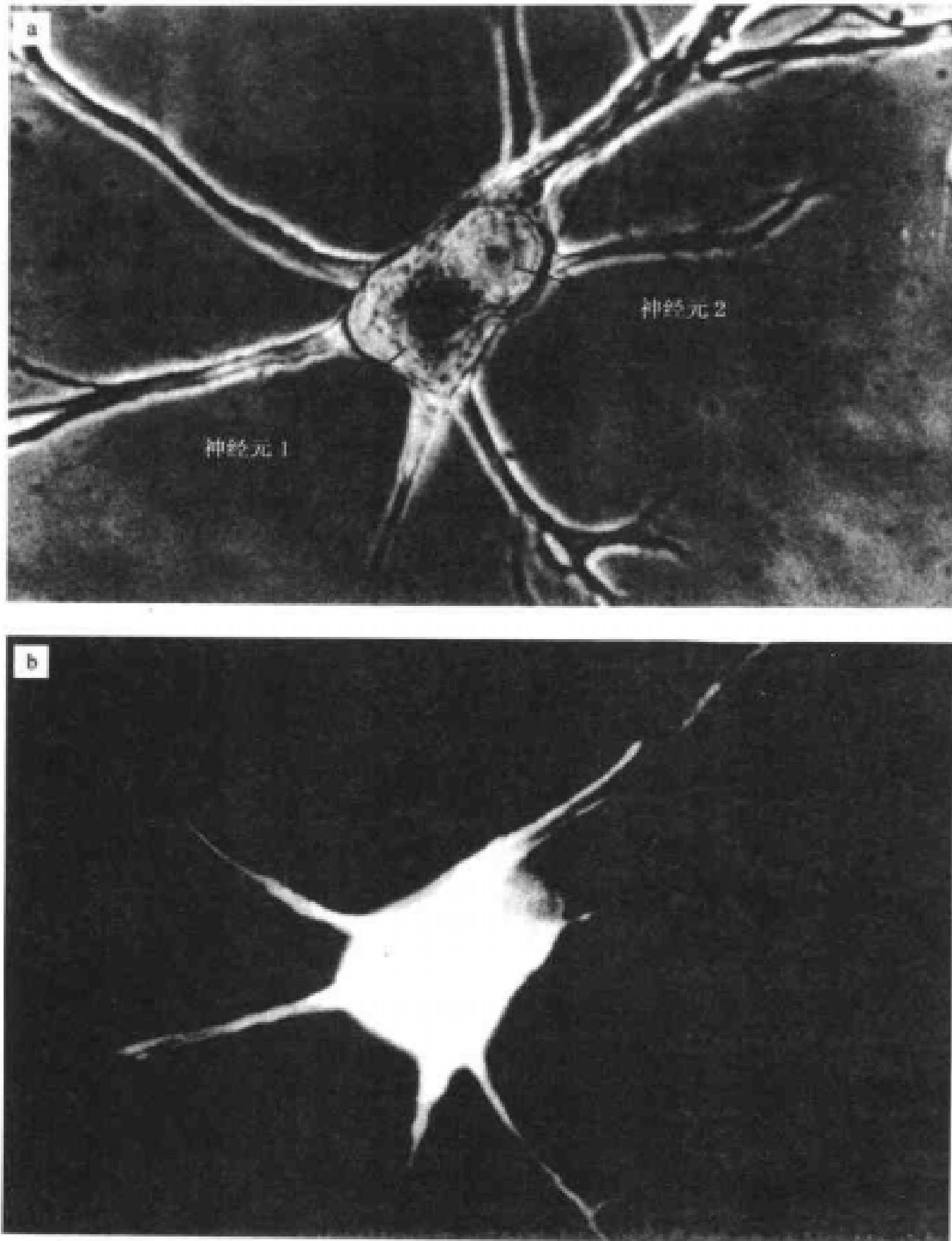


图 1-10 通过电突触的染料偶联。a：培养皿中分离出的两个相邻神经元的照片。图下方的细胞（神经元 1）已被作者中的一位注入了荧光染料荧光黄（Kaczmarek et al. 1979）。b：荧光图片显示染料已进入到神经元 2。

与化学性突触比较，电突触的特性被认为较少变化，因此，这可为细胞间联系提供一个恒定的模式。然而，已有证据提示电突触传递的效能仍是可调节的，其程度也许和化学性突触一样。我们在第 17 章中将进一步看到，检查小的神经元网络时发现网络中许多神经元同时存在化学性突触和电突触连接，一种突触的传递可能受到另一种类型突触的调节。

所以，当我们扩大了对神经系统中细胞间联系的了解时，关于电突触传递更详细信息的了解无疑将是必需的。

小结

神经元是负责细胞内和细胞间信息传递（或信号传导）的脑细胞。神经元是非对称性细胞，细胞上有形态和功能上独特的区域，特化用于**信号传导**。在本章中我们着重讨论了动物王国中神经元独有的结构成分特点。它们包括具有接收来自其他神经元信息功能的**树突**。**轴突**与它相反，专用于细胞间长距离的信息传导。最后我们讨论了介导神经元间信息传递的高度特化结构——**突触**。正是这种细胞内和细胞间的信息传递构成了神经系统的最基本功能，它一方面是使得脑的研究非常复杂和困难，与此同时使得许多细胞生物学的学生着迷。

2

脑细胞的组成与功能

在第 1 章中，我们着重讨论了神经元，特别是特化为细胞内和细胞间信息传导功能的神经元结构。现在将讨论不同类型**胶质细胞**（glial cell）的结构和功能的某些特点，胶质细胞构成了脑中细胞的绝大部分。然后将着重讨论神经元与其他类型细胞包括胶质细胞所具有的共同结构特点。最后将讨论**细胞骨架**（cytoskeleton）和它们在神经元结构的形成和维持中的作用。

脑是由神经元和胶质细胞组成的

在 19 世纪中期，德国解剖学家 Rudolf Virchow 发现脑中细胞可被分为不同的两群：① 神经元和② 数量巨大的包绕在神经元周围和充填在神经元间的细胞群。Virchow 将这类细胞称为**神经胶质**（neuroglia）或神经胶，暗示它们的功能之一是在一定程度上支撑神经元。尽管并无证据支持胶质细胞真的将神经元粘合在一起，但这名称却保留下来了。

胶质细胞本身根据显微镜下的形态可被区分为几个亚类。在中枢神经中有两大主要类型的胶质细胞，分别是**星形胶质细胞**（astrocyte）和**少突胶质细胞**（oligodendrocyte）。就像它们的名称所示的，星形胶质细胞具有星状的外形，从细胞体上伸出大量的长臂（图 2-1a，b）。少突胶质细胞同样具有中央的细胞体，与星形胶质细胞比较，它的放射状臂较短，但臂的分枝较多（图 2-1b）。在下面我们将谈到在中枢神经系统中少突胶质细胞能形成包绕轴突的**髓鞘**（myelin sheath），对神经元的功能起着重要的作用（见图 2-3）。在周围神经系统中，另一种胶质细胞即**施万细胞**（Scbwann cell）负责形成髓鞘。

除了髓鞘形成外，胶质细胞还具有一些其他功能。比如，已知胶质细胞：

（1）能形成用于神经元迁移和轴突生长的支架；

（2）参与神经元用于细胞间信息传递的神经递质的摄取和代谢；

（3）摄取和缓冲细胞外环境中的离子；

（4）起清道夫作用，清除死亡神经元所遗留的残片。

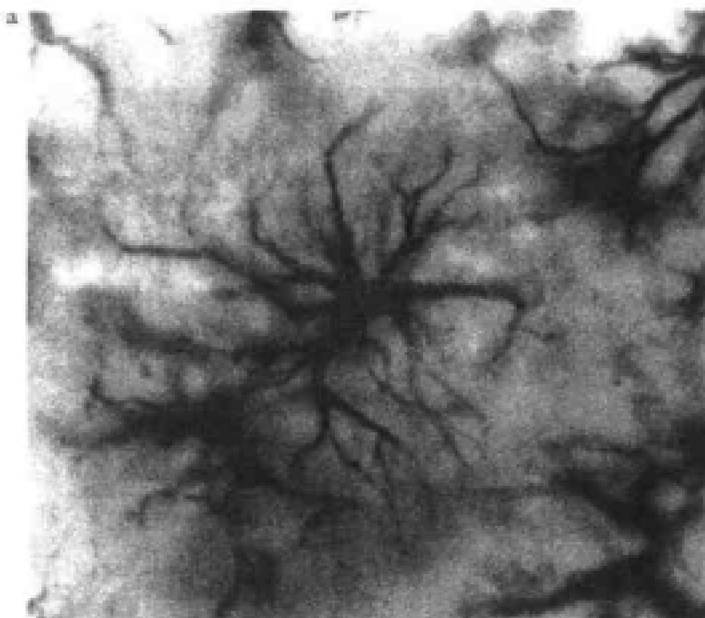
尽管证据不十分确定，胶质细胞还可能：

（5）区分开不同种类的神经元，和起着神经元间绝缘体的作用；

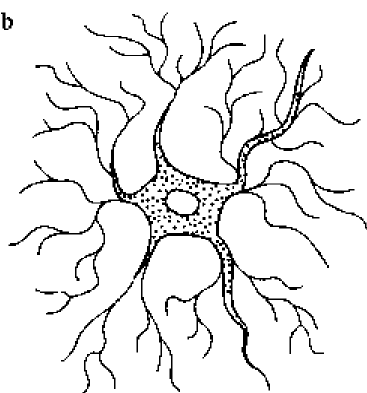
（6）在结构上支撑神经元，起着其他器官中结缔组织细胞的作用；

（7）起营养作用，为神经元提供机能上必需的代谢成分甚至蛋白质；

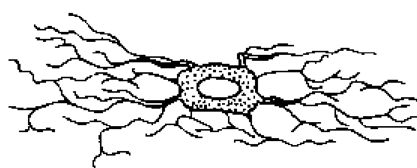
（8）参与信息的处理和记忆存贮。



b



星形胶质细胞



少突胶质细胞

髓鞘 已知髓鞘形成是胶质细胞的功能之一。在脊椎动物神经系统中，髓鞘包绕着绝大部分轴突。尽管髓鞘是由胶质细胞形成，严格地来讲它并不是轴突的一部分，但它对轴突的功能却是至关重要的。在中枢神经系统的轴突上，髓鞘是由少突胶质细胞形成的。而在周围神经系统的轴突上则由施万细胞形成。当用电镜检查切片中的有髓轴突横切面时，发现轴突被明带和暗带交替呈同心圆样结构包绕着（图 2-3a）。这种结构是在发育期间少突胶质细胞膜或施万细胞膜紧密包绕轴突而形成的（图 2-3b）。当这些细胞包绕轴突时，胶质细胞浆渐被挤出，所以同心圆结构代表多层的紧密相对的胶质细胞的胞浆膜。人们可从检查一卷竖起的纸中，得到有髓轴突结构印象。中心的纸板管代表轴突，缠绕在它上面的一层层纸就像缠绕轴突的胶质细胞浆膜。

一个施万细胞可缠绕 1 cm 长距离的周围神经轴突。因为有些轴突可长达 1 m 或更长，所以髓鞘是由大量覆盖一小部分轴突的施万细胞所形成的。在相邻的施万细胞间有长达数微米的间隔，被称为**郎飞结**（nodes of Ranvier）（图 2-4）。郎飞结间被施万细胞包绕的部分被称为**结间**（internode）。我们继续比喻，有髓轴突可比喻为很多个端对端连接的纸卷，纸卷间的小间隔代表郎飞结。（但当然不是纸管间的间隙）

这种多层膜的结构含有非常丰富的脂质，在轴突胞浆（轴浆）和细胞外液间起着绝缘作用。这意味着电流只能在各个节处流过轴浆膜，在第二篇我们将进一步看到，这对电信号沿着轴突传导的速度有重要意义。比如，在那些出生时髓鞘未完成的动物种群中，新生动物在运动表现方面非常受限制，事实上，只有等待轴突的髓鞘化完成后，运动才能改进。在包括伴有髓鞘广泛损伤的多发性硬化症在内的所谓**脱髓鞘疾病**（demyelinating disease）中，观察到运动功能严重障碍，从而对髓鞘功能的重要性得到了重视。

除了在电信号传导中的重要作用外，发现在施万细胞和神经元间还有其他的相互作用。比如，神经元产生某些分子如生长因子，它是施万细胞增生所必需的。反过来，施万细胞产生某些分子，影响神经元蛋白的表达，对神经元的生存

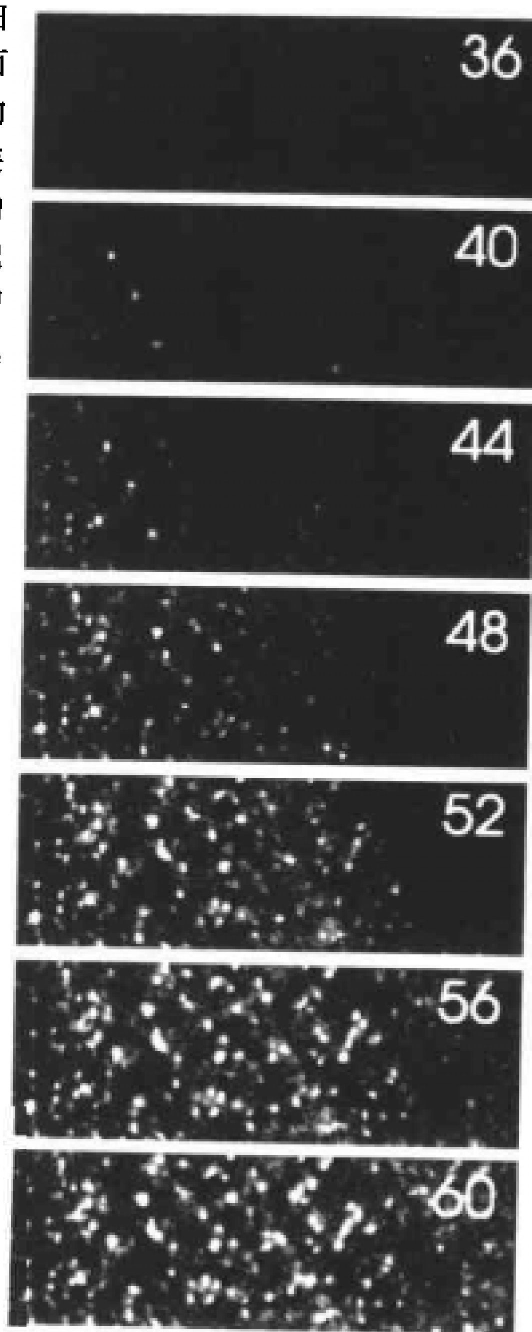
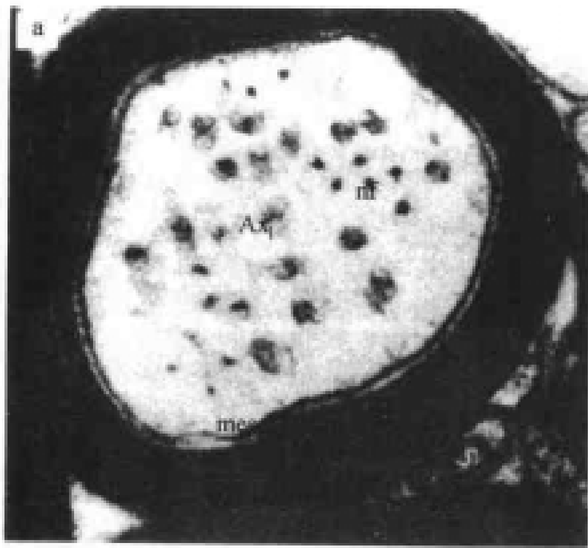


图 2-2 钙离子波峰在星形胶质细胞间的扩散。来自海马脑片中的星形胶质细胞被负载上一种与钙离子结合时能发出荧光的染料 Fluo-3，并由共聚焦显微镜摄影形成图像（有关钙离子影像的问题在第 8 章中将有更详细的讨论）。图片中数字代表当脑片中被兴奋的细胞受刺激后摄影取照片的时间（单位是秒）。自 Stephen J. Smith 及其同事们的实验（Dani 等，1992）。



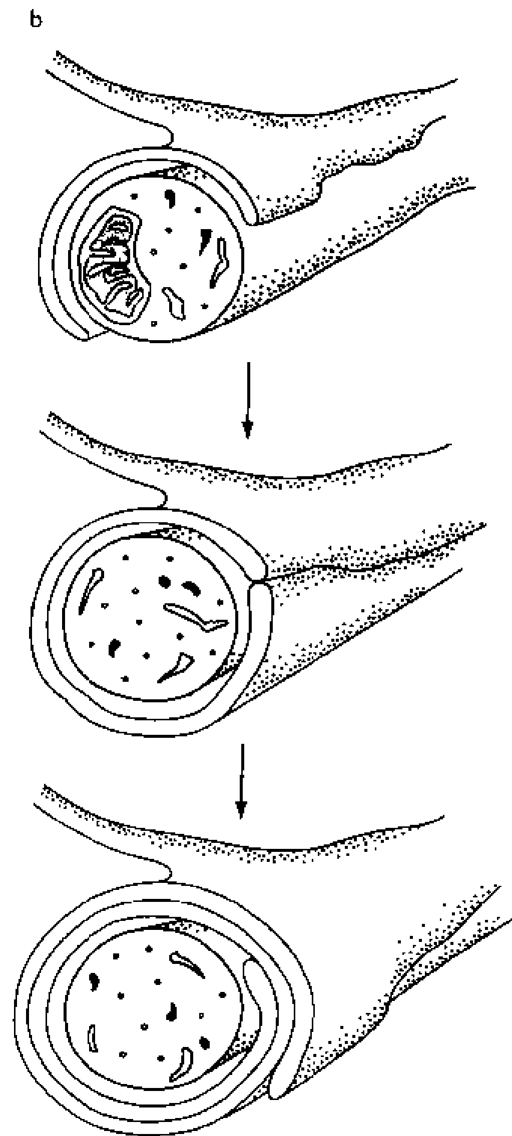


图2-3 髓鞘 a.有髓轴突横切面的电镜照片（[illegible]

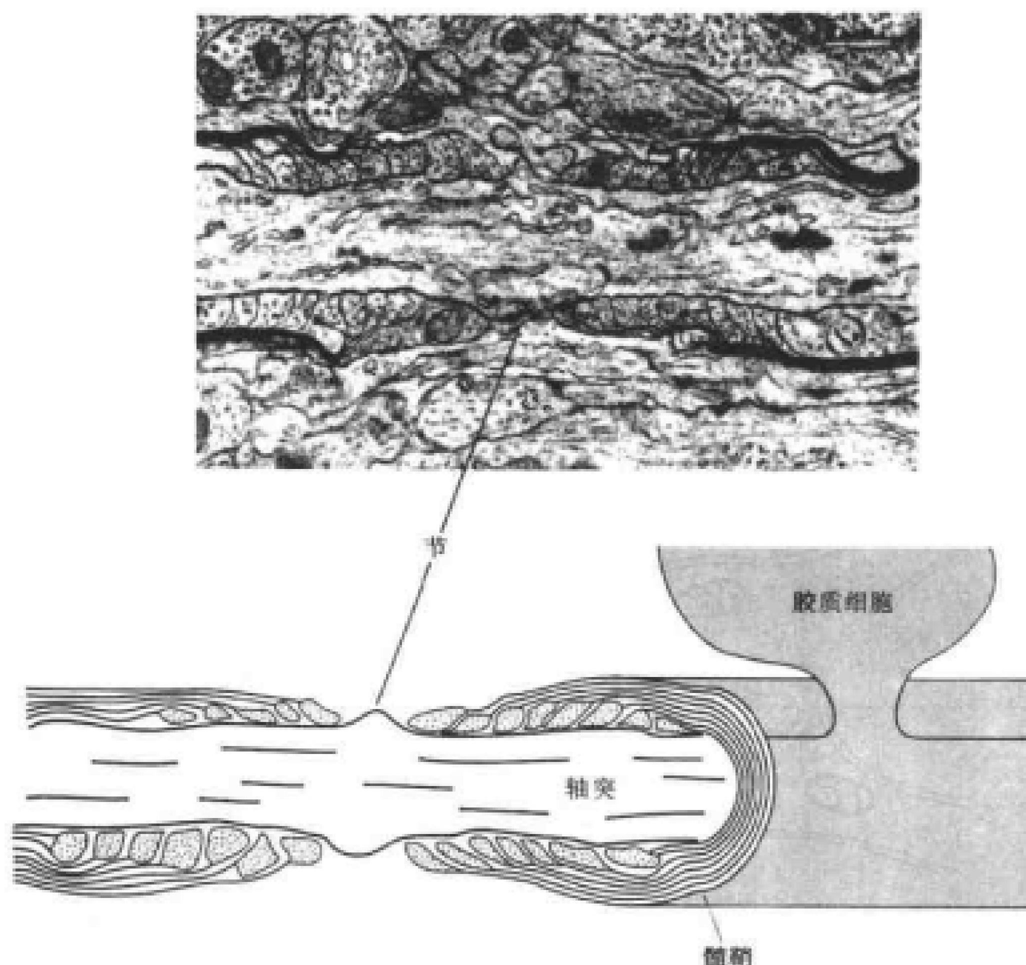


图 2-4 Ranvier 结的电镜照片和图解。在该区，髓鞘在两相邻的胶质细胞间有一小段距离的中断，使轴浆膜暴露于细胞外液中（电镜照片由 Dennis Landis 惠赠）。

神经细胞体：神经元和其他细胞是一样的

就像 Ramón y Cajal 所指出的，神经细胞或**神经元**是脑内独立的信号传导单位。尽管作为脑功能标志的细胞间信息交流使脑成为独一无二的器官，但在其他许多方面，神经元（胶质细胞）和其他细胞非常相似。图 2-5 是神经元的模式图，与图 1-3 相似，但包含有一些其他细胞器。请注意这个神经元含有自细胞体上发出的大小和形态不同的突起。在图 2-6a 的电镜图中，神经元的胞体和在其他器官中的细胞非常相似。细胞体中最突出的细胞器是细胞核，它含有遗传性物质 DNA。神经元中染色体 DNA 和机体中其他细胞的染色体 DNA 是相同的（尽管在一些无脊椎动物中存在所谓巨神经元，染色体分裂多次但无相应的细胞分裂，导致这些细胞的核中染色体多达 50 000 拷贝；其功能尚不十分清楚）。尽管染色体和其他细胞中的并无不同，但基因的调节方式是独特的，可合成神经元所独有的蛋白类型。当然其他组织也存在特殊的基因表达，导致形成肝，肌肉，心脏和其他器官的特殊细胞类型，以及脑中不同类型的神经元和胶质细胞。

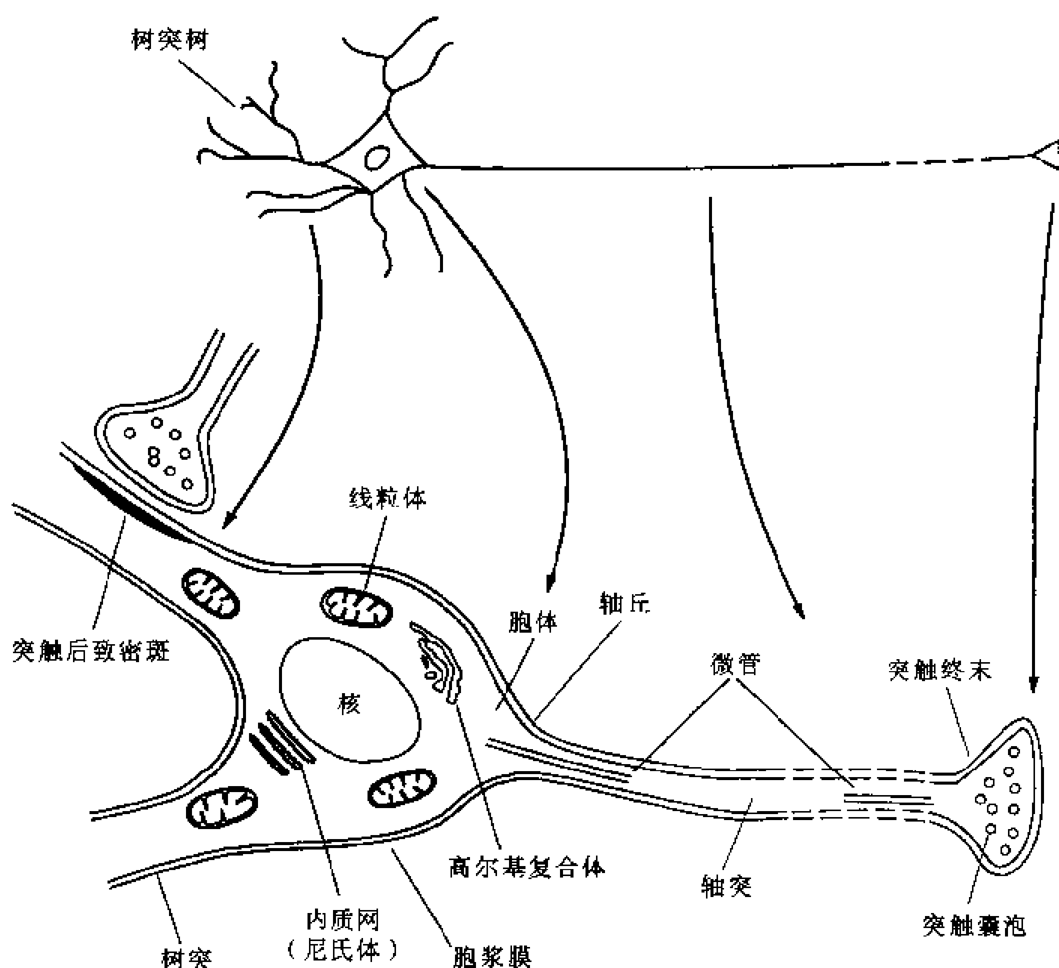


图 2-5 神经元的超微结构。典型神经元的图解，显示神经元的全貌和细胞器的特征。对所有细胞均为共同的结构和细胞器用黑色表示（和图 1-3 比较）。

像其他细胞一样，整个神经元是由胞浆膜包绕着的。它是一种**双层**的磷脂分子，它们形成了一道障碍，防止了细胞内物质和细胞外间隙中物质相混淆。胞浆膜也是一种有效的绝缘体，阻止带电离子自由扩散入或扩散出细胞。这非常重要，因为神经细胞的信号传导需要有控制的通过胞浆膜的离子流动，该过程是由膜中特殊的蛋白质所介导的。

神经元胞体中还可发现哪些其他的普通细胞器（图 2-5 和图 2-6）呢？细胞体内（还有神经突起）含有线粒体，供应细胞能量。事实上，因为维持对神经信号传导所必需的细胞内外离子梯度需要大量的能量，所以神经元内线粒体含量特别丰富。核糖体负责嵌入细胞膜内和用于合成分泌的蛋白质。它们位于粗面内质网的膜性囊上。粗面内质网常在神经元细胞核的周围不寻常地聚集，形成了称为**尼氏体**（Nissl substance）的特殊结构（以发现者名字命名）。其他膜性结构包括滑面内质网和高尔基复合体，参与膜嵌入和分泌蛋白质的加工过程（见第 7 章）。溶酶体和其他颗粒参与细胞成分的降解和处理。

我们仅简要列举了这些胞体内的细胞器，因为具有细胞生物学基础的读者，已熟悉这些细胞器的结构和功能。尽管有些特征是神经元所特有的，如尼氏体的存在和线粒体

的密度，但与其他细胞比较，仅是相对的少量的不同，而不是质的差别。只要一名受过训练的观察者就能迅速判明如图 2-6a 中的电镜照片，是神经元而不是其他类型细胞。

或许在不同类型的细胞中，结构及功能保守性最显著的例子与分泌的分子机制有关。我们将在第七章中详细讨论这个问题。但在此值得一提的是，从酵母到人，参与机体中囊泡运输和分泌过程的蛋白质和分子机制几乎是完全相同的。神经细胞生物学的细胞生物学机制和其他类型细胞的机制基本上是一致的。

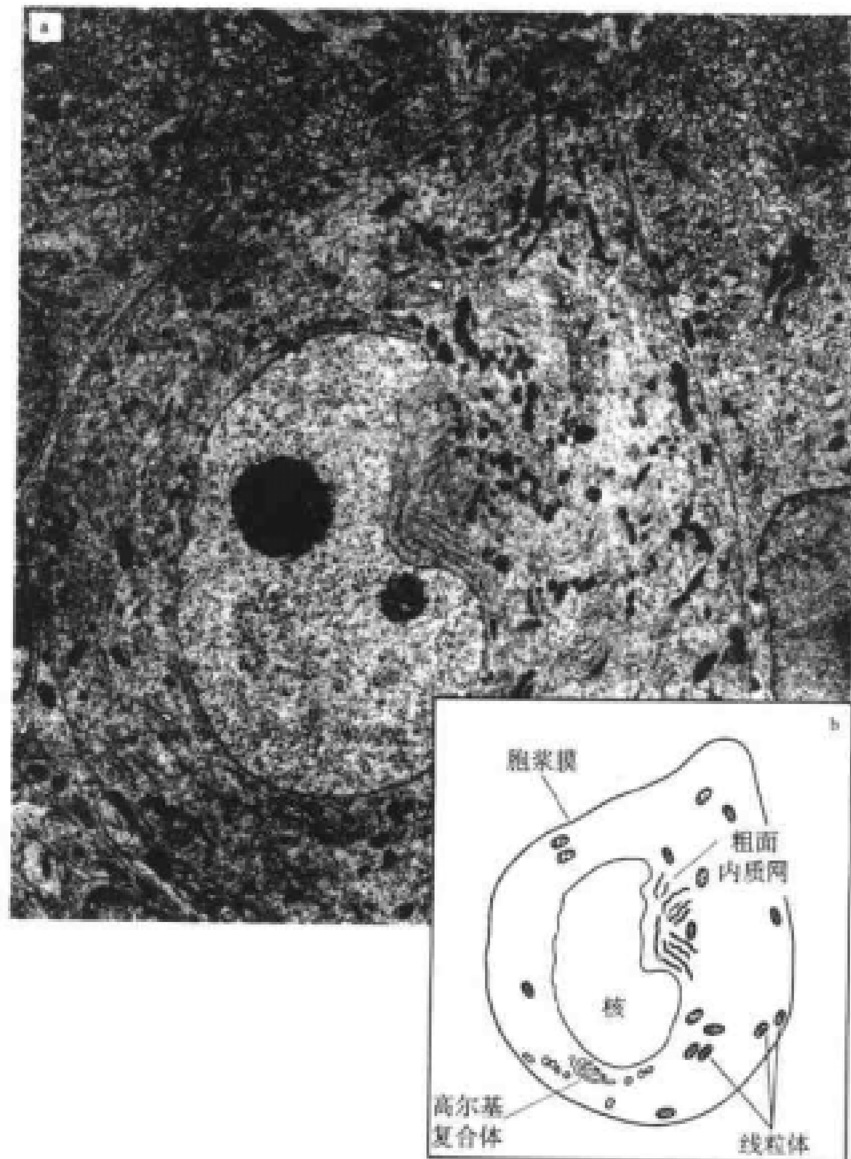


图 2-6 神经元的细胞体。a：小脑普金野氏细胞，一个典型神经元通过胞体切面的透射电镜照片（由 Dennis Landis 惠赠）。b：显示某些细胞内细胞器的模式图。

神经元形状的形成和维持

当人们检查神经元的图像，发现它的显著的不对称性结构时（见图 1-3 和 2-5），不免会问是什么机制使神经元在发育期形成了它的**极性**（polarity），换言之，会问像轴突和树突这样的结构是怎样产生的？在本章剩余部分中，我们将介绍一些重要的分子和过程，它们对神经元结构的维持起着重要作用。

细胞骨架　神经元和其他细胞一样，含有被统称为细胞骨架的各种细丝结构网。这种网状结构的主要成分是**微丝**（microfilament）（或神经微丝，neurofilament）和**微管**（microtubules）（图 2-7）。

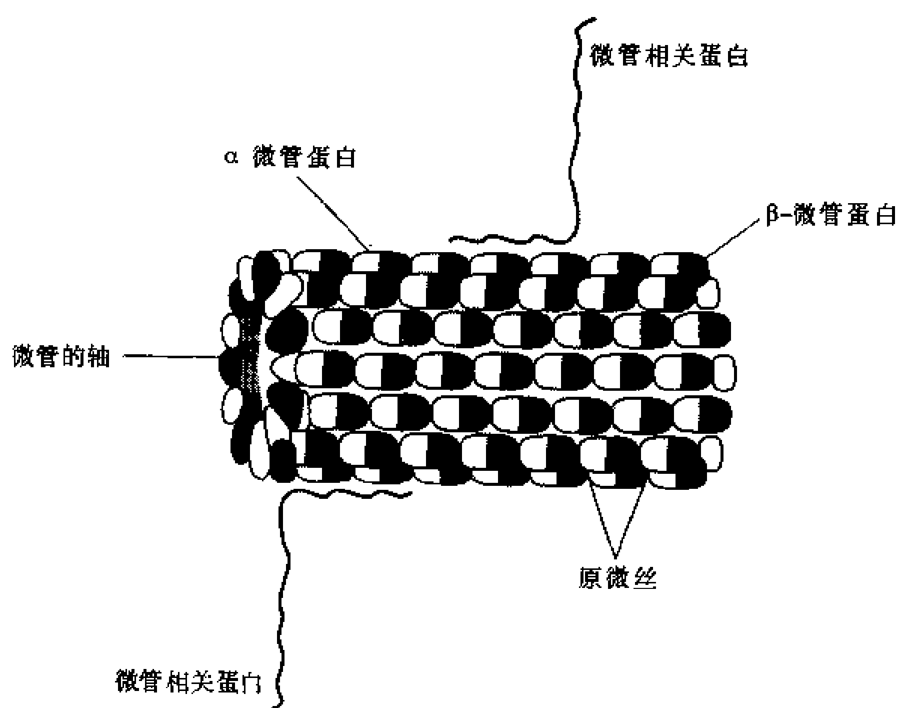


图 2-7　微管。中空微管不弯曲的壁是由原微丝呈螺旋状排列而形成，每个原微丝是 α 微管蛋白和 β 微管蛋白组成的二聚体结构。微管相关蛋白附着于微管上。

微丝的功能在骨骼肌细胞中最易被理解，它们是由肌动蛋白和肌球蛋白组成的。微丝是以高度有序的结构存在的，相互作用产生肌肉的收缩。在第 15 章中我们也将看到在轴突中也有肌动蛋白，在轴突生长的末端最为显著，即所谓的生长锥，在此它们参与调节膜运动。在包括神经元在内的许多类型细胞中，肌动蛋白的含量占细胞内蛋白总量的很大部分。

神经微丝也许是细胞骨架成分中了解得最少的结构。它们是直径约 10 nm 的长细丝，粗细介于肌动蛋白微丝（5 nm）和微管（约 20 nm）之间。由于这个原因，他们自然也被列入细胞骨架的一般成分。在非神经细胞中被称为中间丝。包括老年性痴呆在内的一些病理改变与微丝结构的高度紊乱有关，但老年性痴呆患者脑中神经微丝的无序状

的缠结，实际上可能并不是引起该病进行性加重的原因。

微管在不同的细胞中有着不同的功能。他们在细胞移动中起着重要作用，是有丝分裂纺锤体的主要成分。它是参与细胞分裂时的细胞器，也是轴突和树突中的主要成分。



图 2-8 MAPs 在轴突和树突中的位置。在这个由 Andrew Matus 和助手们所进行的实验中，大鼠的小脑切片被可特异性地识别特殊的微管相关蛋白（MAP1）的抗体染色。用这种抗体，大的浦肯野氏神经元树突的染色非常明显。

和其他微丝一样，它们是多聚体结构，由大量的两种大小相似为 50 kDa 的蛋白，被称为**α微管蛋白和β微管蛋白**（α- and β-tubulin）重复构建而成（见图 2-7）。微管蛋白多聚化形成微管依赖于核苷酸 GTP，和对多聚化有促进作用的**微管相关蛋白**（microtubule-associated proteins，MAPs），MAPs 还有助于将微管定位于细胞膜或其他细胞骨架成分上。MAPs 的种类有多种，分别存在于轴突和树突中。此外，在神经元发育期间，不同的 MAPs 的量也有不同的特性变化。图 2-8 显示了大鼠小脑切片的显微照片，已经过抗一种特殊 MAP 蛋白（MAP1）的抗体染色。在大的浦肯野氏神经元的树突中染色非常明显。然而在早期发育过程中，MAP1 只是局限于这些细胞的轴突内。这些发现提示微管相关蛋白在轴突和树突的结构分化中起着重要的作用。

轴浆运输　当检查神经元的结构时会产生另一个重要的问题，是神经元在每日的正常生活中，其结构是如何维持的呢？因为细胞的某些部分离细胞体可远达 1 m 或更多，在神经元中必然存在着某种机制，将蛋白质和其他必需的代谢物输送至它的远端部分。已知蛋白质的合成只限于细胞体内和一些树突内，在轴突和其终末中无蛋白质的合成。那么正常的膜更新及代谢功能必需的酶，如神经递质的合成和降解所需的蛋白质，是如何抵达它们合适的地方呢？为远离细胞体的部位提供能量的机制又是什么呢？

为了执行这些功能，神经元已进化出一系列精致的被统称为轴浆运输的运输系统。当然，所有细胞都面临将细胞内成分由一部分移动到另一部分的问题，但就像在上面已指出的那样，对于神经元而言，这个问题更加突出。所以它的运输系统被高度特异化了。因为在没有主动运输过程下，一个典型的蛋白质从胞体被动扩散移向末端时，每移动 1 cm 大约需要 10 天时间。

对轴浆运输的研究在 60 年前就开始了。当轴突被结扎并在显微镜下检查时，可发现有多种泡状结构聚集在结扎的近端（图 2-9）。从这个实验中，推论这些小泡是从轴突的近端移向它的远端（由细胞体向轴突末端）。其他轴浆运输的早期研究中，利用脑中细胞体远离它们的轴突和轴突末端的部分。在这方面，视觉系统特别有用，因为视网膜神经节神经元只是细胞体位于视网膜，而它轴突通过视神经行向脑部。所以许多研究者在眼部应用放射性或荧光性标记物质，探讨这些物质是否会和怎样被沿着视神经运输

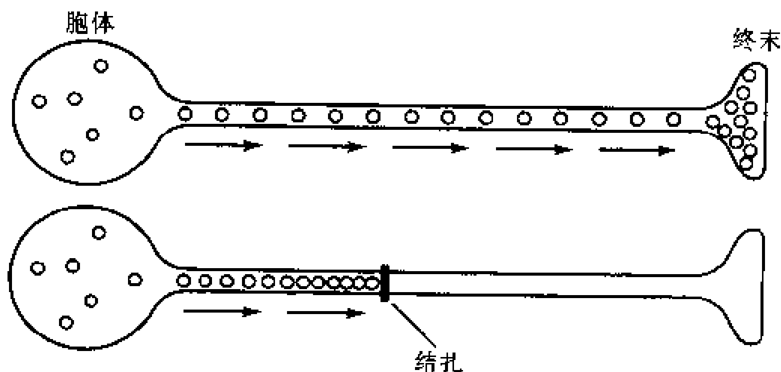


图 2-9　囊泡从细胞体被运输到轴突末端。囊泡和细胞器是在细胞胞体内合成，通过主动过程（箭头）沿着轴突被运输到轴突的末端。当轴突被扎上（结扎）时，囊泡在轴突被结扎处靠近细胞体端积聚。这种实验是由 Paul Weiss 和他的同事在 1930 年首先进行的。

到脑的。这类研究中应用最广泛的是用能被整合进蛋白质的具有放射性的氨基酸，为追踪蛋白质的运输提供了一个标记物。这些实验已证明蛋白质在轴突内的运输速度是不同的，每种速度代表不同的运输形式。有一种快速的轴浆运输，其速度可达每日数百毫米，而有些慢速型蛋白运输的速度仅为每日 1～10 mm。

人们早就推测细胞骨架成分，例如存在于整个轴突中的微管，在轴浆运输中可能起着重要的作用。这个猜想已被使用能断裂微管、阻断轴浆运输的药物**秋水仙碱**(cholchicine)的实验所证实。此外，一种被称为**增强的相差视频显微镜**(enhanced-contrast video microscope)技术，可在实验时观察到沿着微管的小泡和细胞器的运动。在被运输的细胞器中可观察到线粒体，这可回答上面提到的关于轴突和神经终末所需能量供应的问题。各种小泡中含有能嵌入细胞膜和能被神经终末释放的蛋白质及其他物质。

分子马达　　线粒体和其他大泡状细胞器，是如何能够沿着微管移动一段距离，到达神经元的远端的呢？近期的实验发现，存在分子转运的部分即所谓的**分子马达**

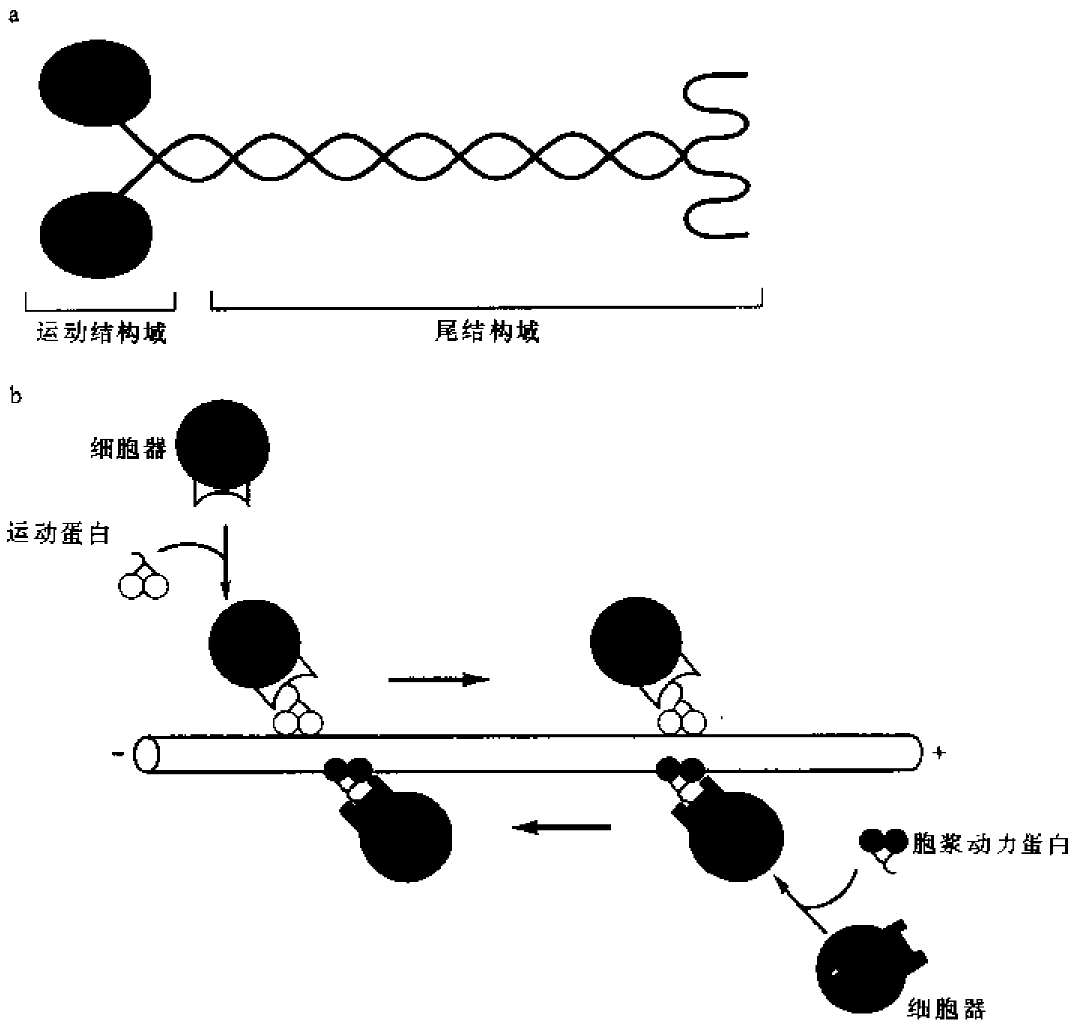


图 2-10　囊泡和细胞器是被主动过程驱动的，经沿微管运输。a：分子马达，运动蛋白的分子构建。功能单位是运动蛋白的二聚体，它含有保守的运动结构域和一个变异的尾部。b：细胞器（如囊泡）的结合和沿着微管的运动是由运动蛋白和另一种分子马达胞浆动力蛋白所介导的（Sheetz et al. 1989）。

(molecular motor)，驱动着轴浆运输和其他的细胞运动。我们了解得最透彻的分子马达是肌球蛋白，它能与肌动蛋白相互作用，形成肌肉收缩的基本单位。事实上，现已知道

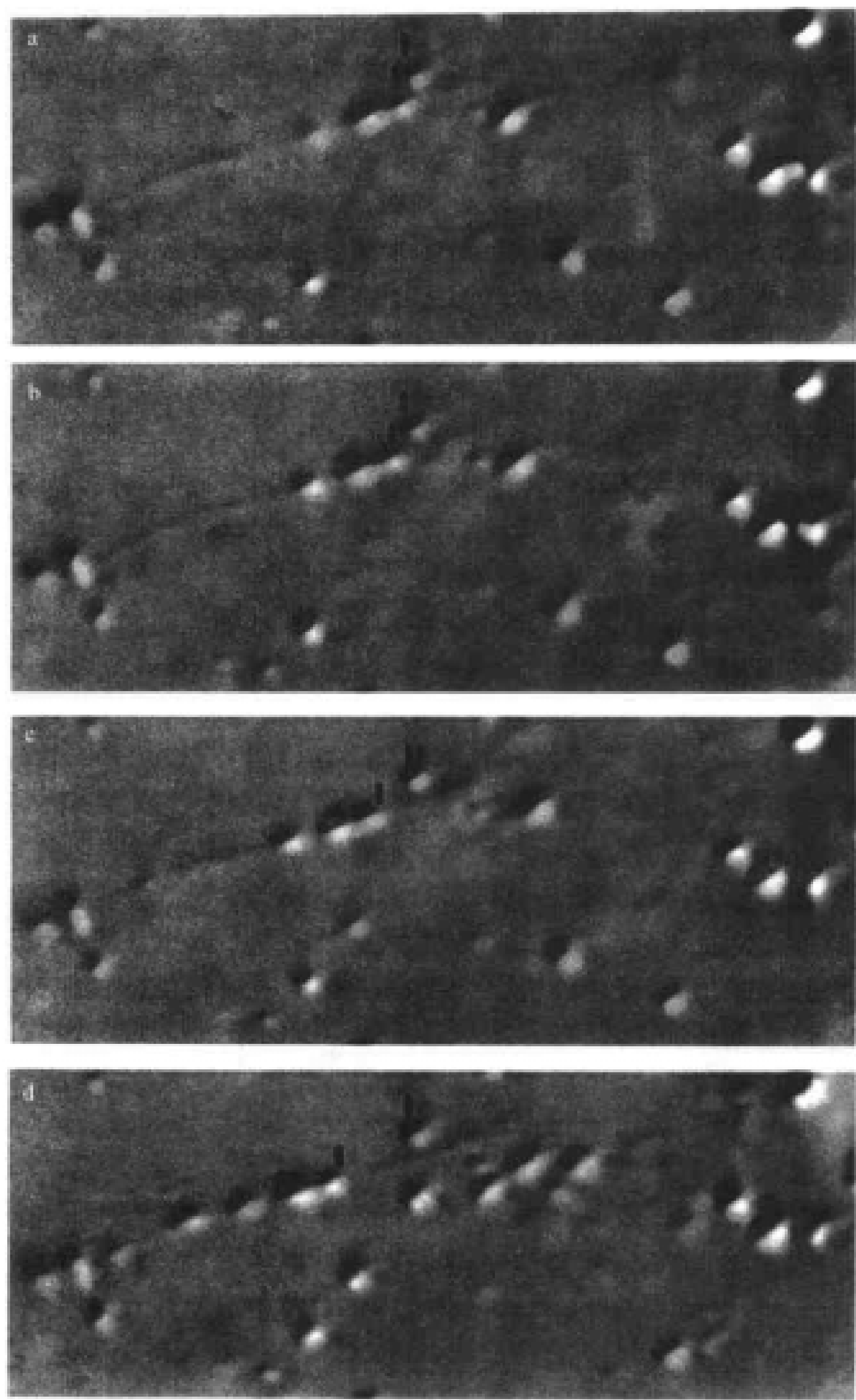


图 2-11 小珠沿着微管的运动蛋白依赖性运动。运动蛋白包被的塑料小珠在玻璃板上沿微管运动的影视图像（在图像左侧呈对角运动的抬高的线）。2 个实心的标志指向 2 个小珠，1 个是在玻璃上（所以不能运动），另 1 个是位于微管上。注意在连续影像图上两个小珠的距离已增加了（相隔时间为 2 s）。影视图像是由 Micheal Sheetz 提供的。

有一大家族的肌球蛋白分子存在，其成员参与诸如细胞分裂，细胞运动和在发育和分化阶段细胞的形状改变等基本过程。肌球蛋白和其他分子马达利用水解 ATP 所得的能量驱动运动，但虽经历了长时间的研究，其机制现仍不十分清楚。

轴浆运输却不是由肌球蛋白所驱动的。任务落到了另一类的**运动蛋白**（kinesin）身上。对酵母，线虫和果蝇的研究，已鉴定出一个运动蛋白基因大家族，该家族大部分成员的功能尚未确定。各种运动蛋白的分子质量大约为 120 kDa，并具有共同的总体分子结构（图 2-10a）。氨基端的大约 350 个氨基酸是非常保守的，形成了所谓的运动结构域。这个区域含有酶的机制负责水解 ATP（ATP 酶活性）。该分子的其余部分序列各不相同（图 2-10a），负责运动蛋白和靶细胞的特殊细胞器或区域相结合。所以这个变异性较大的尾部决定了特定运动蛋白的生物功能，而运动结构域只是简单地驱动所需的运动。这种运动蛋白的分子结构通过重组 DNA 技术得到了进一步的肯定，这种技术只合成仅含运动结构域的运动蛋白分子片段。这种含有纯运动结构域的蛋白片段，可单独使微管产生在非生物材料表面，如玻璃的 ATP 依赖性运动。

运动蛋白是如何驱动囊泡、线粒体和其他细胞器轴浆运输呢？运动蛋白和微管、囊泡相互作用，应用水解 ATP 产生的能量，产生相对运动（图 2-10b）。运动蛋白在轴浆运输中的中心作用在图 2-11 所示的实验中得到了证明。增强的相差视频显微镜显示，包被有运动蛋白的塑料珠能沿着微管以 ATP 依赖的方式被运输。一个无活性的小珠可像细胞器一样活动的事实，意味着除了与运动蛋白结合的部分外，运输过程并不需要细胞器上的蛋白质参与，运动蛋白本身就足以驱动整个过程。

因为在活体的轴突中，微管已被其他细胞骨架成分或细胞膜有效地固定，运动蛋白作用的真正效果是将囊泡沿轴突由近至远（**顺行运输**）地进行运输。细胞器也能被由远到近地进行运输；也就是朝向细胞体运输（**逆行运输**）。这是或至少部分是由另一种分子马达所介导的，它是一种微管相关蛋白（MAP1c），也被称为**胞浆动力蛋白**（dynein），它有别于运动蛋白。一个单一的微管就能充当顺行和逆行两种运输的轨道，运动的方向是由和细胞器结合的马达的特性所决定的。

小结

脑和其他器官一样是由大量的细胞所组成的。但与其他器官不同的是脑含有大量不同类型的细胞。除了许多不同类型的神经元外，还有一些不同类型的胶质细胞。胶质细胞的数量是神经元的 10 倍或更多，但除了髓鞘形成的功能外，对胶质细胞的功能仍不十分清楚。除了在轴突周围形成髓鞘这个重要功能外，胶质细胞也许参与了脑中钙离子信号传导。神经元在许多特征上与其他细胞相同（包括胶质细胞），但他们因高度的不对称形状而有别于其他的细胞。神经元骨架是在发育期间建立这种形状和在成年后维持这种形态所必需的。神经元利用一种被称为轴浆运输的过程将囊泡和其他细胞器运往远离胞体的部位。被称为分子马达的蛋白，利用水解 ATP 时的能量驱动轴浆运输。因此，神经元进化出了独有的机制，来建立和维持信号传导所必需的形状。

第二篇

神经元的电特性

我们在绪论中强调神经细胞内及细胞间的信息传导是神经系统功能的基本成分。我们也已看到神经元是高度不对称的细胞，它的突起常从细胞体伸展很远的距离。下面四章讲述的基本问题是信息如何在细胞内从神经元的一个部分传导到另一个部分。第 3 章涉及电信号传导的基本现象。神经元和其他细胞一样，具有跨细胞膜的电压差。跨膜传导电压的迅速变化，称为**动作电位**（action potential），能够从细胞的一个部位扩散到另一个部位，被神经元（但不是其他大部分细胞）用作信息编码。第 4 章介绍**膜离子通道**（membrane ion channel），是一种普遍存在的高度特殊化的膜蛋白，已进化成为对跨过胞浆膜的离子运动提供精细的控制。我们在本章以及后面两章中相当详细地讨论离子通道的生物物理及分子性质，因为正确理解离子通道如何工作对于理解信息传递是很重要的。第 5 章讨论不同的离子通道的联合活动引起动作电位和神经元电活动的复杂类型的途径。神经元和其他大多数细胞的不同之处在于它们膜离子通道的特殊合作活动，从而使动作电位以复杂的时相产生和扩散。最后，第 6 章描写**电压门控离子通道的多样性**（diversity of voltage-gated ion channel），重点在钙通道和钾通道。在这一章中我们也提及钙通道和钾通道的结构和功能的关系，以补充在第 4 章中对钠通道的类似讨论。分子克隆技术现已使我们可以证明离子通道的不同功能部位的结构。这种技术的目标是从基本的分子机制上最终理解电信息传递。

3

神经元内的电信号传导

虽然神经元和其他细胞一样具有许多共同的特点，但它们还是非常独特的，因为神经元的主要功能是从一个细胞到另一细胞以及在同一个细胞不同部分之间进行加工和传递信息。在本章和随后的三章中，我们将集中讨论神经元用于细胞内通讯和用于刺激产生细胞间信息的**电信号**（electrical signal）的本质和机制。

信息的细胞内传输：轴突

在第1和第2章中我们阐述了神经元是高度不对称性的细胞，它们的不同部分表现出能够使其完成专门化任务的结构特点。我们将首先集中讨论轴突，它是神经元将信息从细胞的一个部分传递到另一部分的结构。

轴突是很细的类似管状的结构，它们从神经元的细胞体发出。它们在体积、形状和其他特征方面有很大的差异（见图1-3）。在中枢神经系统内的某些轴突的长度只有数微米，比其起源的神经元细胞体的直径大不了多少。相反，从中枢神经系统走向身体其他部分的轴突，在人体可能长达1 m，在较大的动物甚至更长。非常明显，轴突信息传输无论是什么样的机制，它必须能够长距离地运作而不歪曲或丢失信息。轴突的直径也是有差异的，从小于1 μm到几乎1 mm，而且任何单个轴突的直径在距离细胞体不同的部位都可能是不同的。轴突的直径在决定信息沿轴突传导的速度方面是一个很重要的因素。此外，轴突是否髓鞘化也影响着传输的速度。

我们将首先论述信息是如何沿轴突传导的，然后讨论不同种类神经元所表现出的电活动的各种形式。在随后的章节中我们将详细地叙述这些现象的机制。现在先综合一下所描述的主要方面，轴突存在着跨轴突膜的电压差，信息在轴突中是以此电压差迅速改变的形式进行运载的。这些电压的变化，通常称之为**神经冲动**（nerve impuls），**峰电位**(spike)，或（最常见地）称之为**动作电位**（action potential），它们沿着轴突从细胞体向着轴突远端部分迅速扩布。

离子通道是神经元内电信号传导的基础

神经元像所有其他细胞一样，存在称之为**膜电位**（membrane potential）的跨神经元胞浆膜的电压差。膜电位是由于膜两侧通过离子所携带电荷的不均匀分布所引起的，这在下一章中会很清楚地了解。某些离子跨胞浆膜的活动比另一些离子可能容易得多，而

且离子的运动在不同的情况下（例如当静息时和动作电位期间相比）可能是不同的。这种不同的通透性是由于在胞浆膜中存在着称之为**离子通道**（ion channel）的特化蛋白质所引起的。这些蛋白质，在第 4 章将进行详细的描述，它的形成了跨膜的水性孔道，通过这些孔道特定的离子能够进行流动（图 3-1）。离子通过离子通道进行的流动就担负着神经元中所有的电信号传递作用。

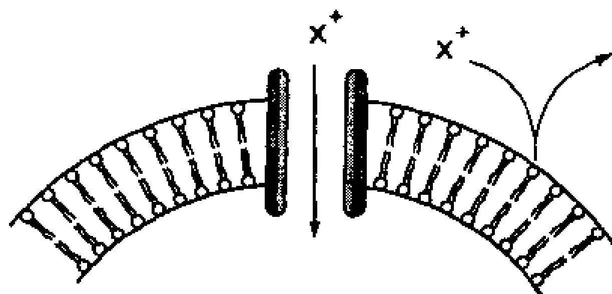


图 3-1 作者有关离子通道的概念，画出了亲水性的小孔，它们跨越疏水性胞浆膜。离子（X^+）只有通过离子通道所提供的含水性小孔才能跨越此膜。

静息电位和被动膜反应

当轴突处于静息状态时，即当轴突不传导神经冲动时，膜电位的数值就叫做**静息电位**（resting potential）。在神经元中静息电位通常是 − 40 mV 至 − 90 mV 范围。按照习惯，通常是与细胞外液相比来表示膜电位的，就是说负膜电位指的是细胞膜的内侧比外侧是较负的。当膜电位的负性小于静息电位负性时，可以说是**去极化**（depolarized）；当膜电位比静息电位更负时，细胞是**超极化**（hyperpolarized）。

通过插入到细胞内一个连接到电位计的测量电极可以测量跨膜电压（V_m）（图 3-2）。这个电极既可以是银丝，也可以是充满导电盐溶液的尖端精细的玻璃吸管。当测量电极的尖端处于细胞外液中时，此电极与也处在细胞外液中的参考电极之间没有电位差（图 3-2 的左侧）。当测量电极尖端越过细胞膜，便有一个和细胞外参考电极相比突然发生的大约 40～90 mV 的负电压偏移（图 3-2 的右侧和下部），这反映出负性的静息电位（Vr）。

应用适当的（并且很简单的）电子仪器，人们也能够通过同样的电极输入负的（超极化）或正的（去极化）电流到细胞内。我们将可以了解在现实世界中神经元是经常地被作为突触活动或感觉输入的生理性相关电流“注入”所轰击。由于是负性电流，膜电位向着超极化方向而变化，并且这种变化的大小简单地反映了所施用电流刺激的强度（图 3-3）。对超极化电流注入反应的这种电压的移位反映了**被动的膜特性**（passive membrane property）。对于很小的去极化刺激反应也可看到类似的被动反应（图 3-3）。

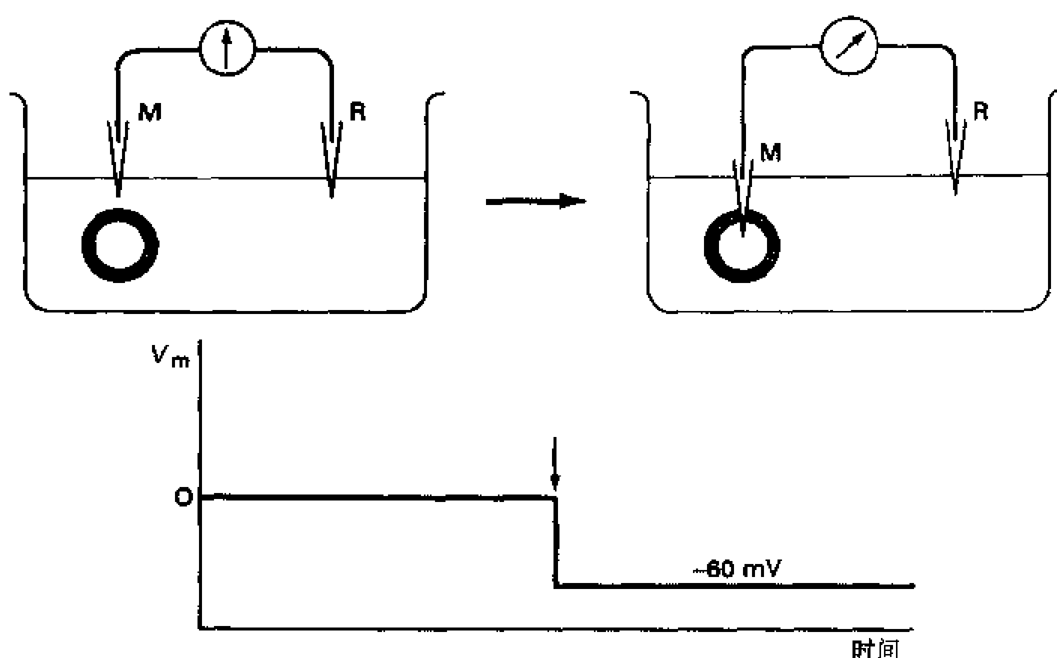


图 3-2 静息电位的测量。由于细胞内的测量电极（M）和细胞外液中的参考电极（R）之间的电压差，能够测量跨细胞膜的电压差（V_m）。

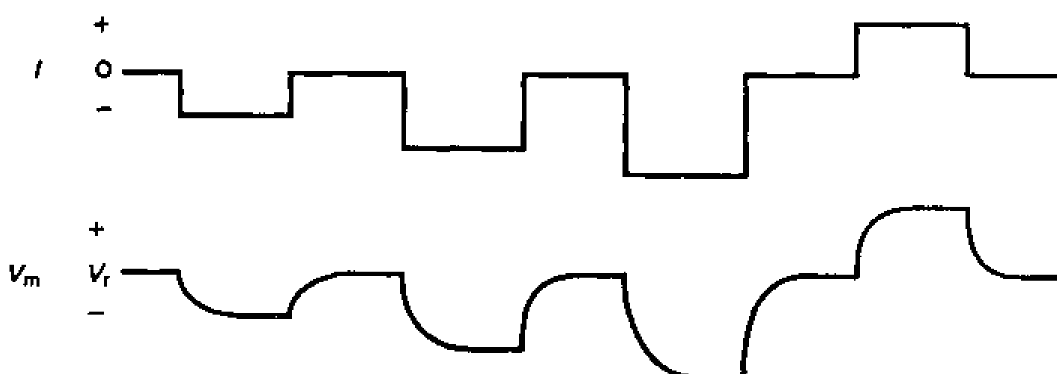


图 3-3 膜的被动反应。通过电极可把电流（I）注入到细胞内，并可用同一或另一个电极测量在静息电位（V_r）条件下所引起的膜电位（V_m）的变化。

胞浆膜是电容器和以并联方式连接的电阻器

神经细胞的胞浆膜，实际上在任何细胞的胞浆膜，形成了细胞内和细胞外部分之间的离子流动的阻力。据此，可以认为某些膜的阻力可以作为**电阻**（electrical resistor, R_m），以欧姆（Ω）来测量。此外，脂质双层在两个导电溶液之间提供了一个极薄的绝缘层，这就使膜作为一个**电容器**（electrical capacitor）而起作用。它是一种能够隔离和贮存电荷的装置。膜电容，C_m，是以法拉第（Farads）（F）来度量的。这些论述使我们可以简明地用“**等效电路**”（equivalent electrical circuit）的术语来描述脂质双层膜的

电学性质，如图 3-4a 所示。

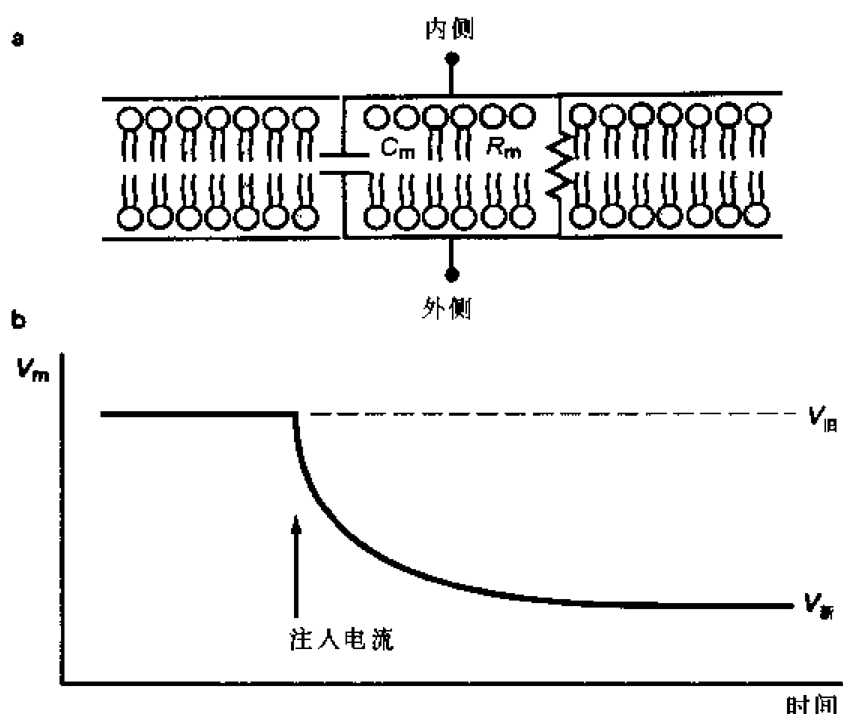


图 3-4 胞浆膜的被动电学特性。a：胞浆膜可被描绘为以并联方式相连接的电阻（R_m）和电容（C_m）。b：电压变化并不是即刻发生的。

生物膜中电压的变化有什么意义呢？图 3-3 说明膜电压变化的时程并没有精确地反映注入电流的变化，实际上电压变化的速率是注入电流（I）和膜电容二者的函数，可以用下式表示：

$$dV/dt = I/C_m$$

这是由于在电压改变以前，膜电容必需充电（或放电），因此，电压变化不可能即刻地发生；而需要由膜的**时间常数**（time constant）τ 所决定的一段时间，时间常数等于膜电阻和电容的乘积：

$$\tau = R_m C_m$$

正如在图 3-4b 所显示的，电压随着时间（t）呈指数性改变，即按照下式发生变化：

$$V_t = V_{new} - (V_{new} - V_{old})e^{-t/\tau}$$

换句话说，电压下降达到其最初值的 1/e 所需的时间为一个时间常数。生物膜中的时间常数变化范围很大，尽管在所有被检测的膜中，每单位膜的表面积 C_m 非常恒定，约 1 $\mu F/cm^2$。据此，这种不相同的时间常数必定反映了一个神经元和另一神经元在 R_m 方面很大的差异，甚至于同一神经元的各个膜区域之间也存在差异。愈益明显，R_m 中的这种差异反映了膜的离子通道的类型、密度和调节方面的差异。我们也将会明白，不同的神经元在无外界刺激作用时表现出性质不同的，往往是类型高度复杂的内源性电活动。取决于离子通道的构成的膜时间常数，在决定神经元的内源性活动，以及细胞对刺激的反应方面，起着重要的作用。

动作电位

以上叙述了被动膜反应的所有特征，适用于任何强度的超极化刺激和弱小的去极化刺激（图 3-3）。但是，当去极化刺激达到较大的临界刺激强度或达到了**阈值**（threshold）时，阈值以下只显示被动的反应，而阈值以上这个反应看上去是很不同的（图 3-5）。不同神经元的实际阈值水平是有差异的，但是它倾向于从 V_r 起在去极化的 10～20 mV 范围内。超过**阈值**，人们可以观察到数毫秒的时程中膜电位有很大的变化，重叠在被动反应之上（图 3-5）。膜电位非常迅速地去极化，然后较慢地返回到静息水平。注意 V_m 并不回到零，实际上是约正 50 mV，即神经元膜内侧对细胞外侧来说短时是正的。

当去极化作用超过阈值时，膜的**主动反应**（active response）是神经冲动或动作电位。它负责将信息从神经元的一个部分传递到另一部分。这个阈值保证膜对很小的随机去极化不产生动作电位是绝对必要的。只有充分重要的刺激（可通过它们较大的振幅反映出来）才可以通过轴突中的动作电位进行信息的转移扩布。动作电位另一个重要的特性是，它们是全或无的反应；正如所称呼的那样，这一**全或无定律**（all-or-none law），是轴突信号传递的基本特征。在图 3-5 的右侧说明了此全或无定律，由此证明足够产生动作电位强度的任何刺激都可引起同样大小的动作电位，而与刺激强度无关。换句话说，一旦刺激是在阈值以上，反应的振幅不再反映刺激的幅值。这一点是非常重要的，它意味着关于刺激强度的信息必定在轴突内以某种方式反映或**编码**（encoded），而不是以动作电位的幅度反映。

虽然动作电位的**振幅**（amplitude）通常与刺激强度无关，但是其他的许多性质并不是无关的。特别是**潜伏期**（latency），即从刺激开始到动作电位的波峰所延迟的时间，它是刺激强度的函数。正如图 3-5 中通过仔细检查两个动作电位所表明的，刺激越强，刺激和动作电位之间的延迟越短。我们将可以看到这种强度-**潜伏期关系**（strength-latency relationship），并连同另外称为**不应期**（refractory period）的现象一起，根据轴突中的动作电位**频率**（frequency）对刺激强度进行编码。

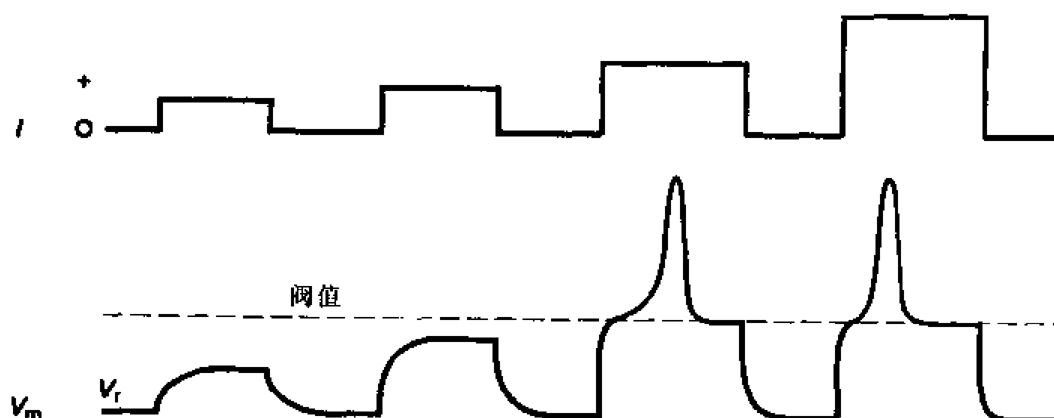


图 3-5 对很强的去极化刺激所发生的主动反应。虽然小的去极化反应产生被动的膜反应，但正如图 3-3 中那样，对于强的去极化电流的电压反应是很不相同的。

在动作电位爆发以后若干毫秒内，无论多么强的去极化刺激都不可能诱发出另一个动作电位，换句话说，在这个期间轴突对刺激是**不应状态**（refractory）。接着**绝对不应期**（absolute refractory period）的是**相对不应期**（relative refractory period），在此期间刺激必须比正常者大得多才能诱发出动作电位（图 3-6）。从阈值的角度出发是考虑不应期的一种常用方式。在绝对不应期期间，阈值本质上是无限大的，无论多么大的刺激都不能超过它。在相对不应期期间，阈值比正常大得多，就是说，它需要比正常刺激强得多，以便超过它。阈值返回到正常水平的进程如图 3-6 所示。因为只有阈上刺激才能诱发动作电位，这个曲线描述了产生第二个动作电位所需要的刺激强度，作为第一个动作电位以后的时间函数。

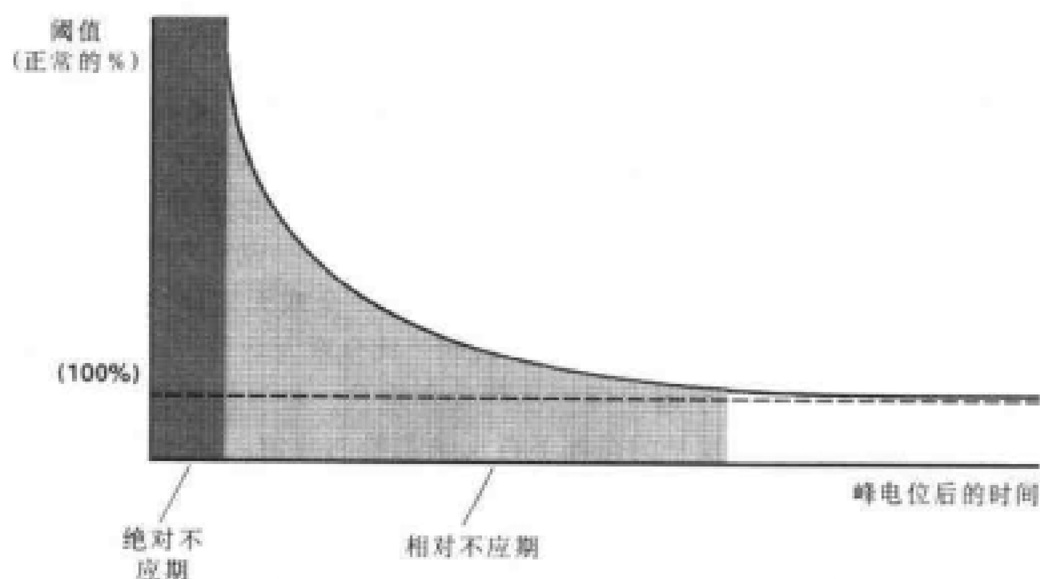


图 3-6 阈值是不固定的。在动作电位发放以后的短时期中，阈值比正常大得多。

频率编码

让我们根据这些概念来考虑轴突对**持续性刺激**（sustained stimulus）的反应。如果刺激在正常静息阈值以上使轴突去极化的话，则引起一个动作电位。但是，即使维持着去极化刺激，只有当阈值下降返回到持续性刺激的水平以下才能诱发出第二个动作电位（图 3-7a）。正如在图 3-6 中所描述的，这将需要一定的时间。在刺激期间对于所有循序发生的动作电位均是如此。因而只要刺激持续存在，轴突都将一直发放动作电位，但是它们之间存在一定的时间间隔。现在考虑同一轴突对于较大的去极化刺激所发生的反应（图 3-7b）。只有当阈值下降返回到刺激水平以下才重新触发第二个动作电位，但是这发生得更快，因为刺激较强（所以阈值不需要下降得太多）。据此，第二和随后的动作电位是以较小的延迟而发生的。从图 3-7a 和 b 的比较可以看出较强的刺激在轴突中反映出动作电位有较高的频率。因此，即使动作电位的幅度服从全或无定律，不能反映刺激强度；但阈值，潜伏期以及不应期等现象确实使轴突以**频率编码**（frequency coding）的形式对刺激强度进行编码。

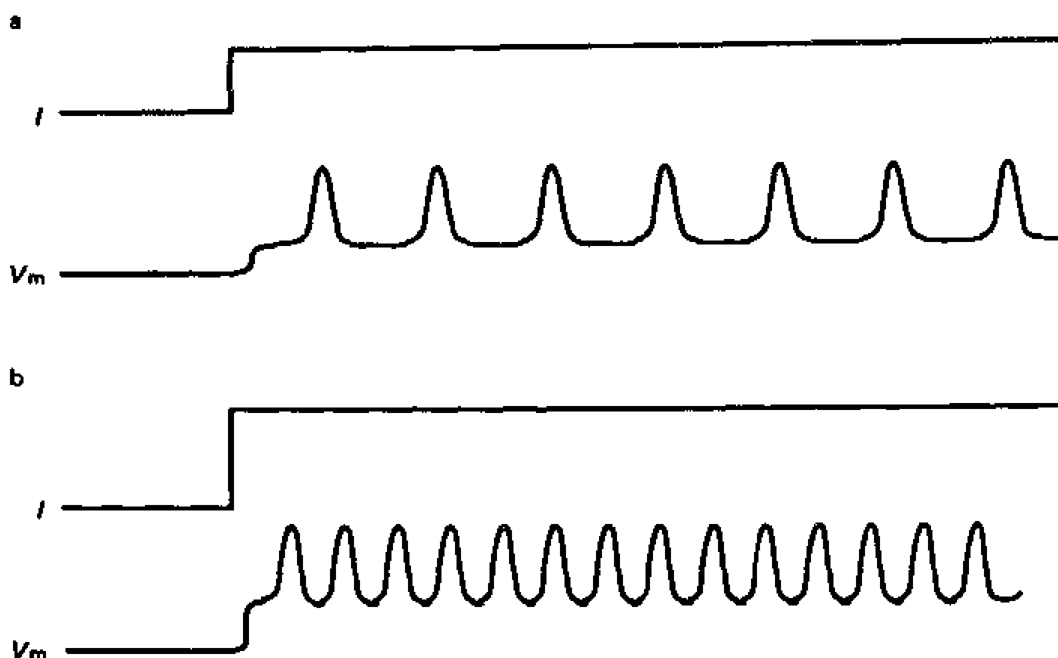


图 3-7 轴突中的频率编码。a：阈上的持续去极化刺激（I）产生一定频率的动作电位。b：当去极化刺激较强时，动作电位的发放频率较高。

被动扩散和动作电位的扩布

到目前为止，我们讨论的每件事物都是属于轴突中一个点上膜电位的**局部变化**（local changes）。但是我们也强调了轴突对于信息从神经元的一个部分传播到另一部分是专门化的。现在要问神经冲动是如何沿轴突从刺激点扩散的呢。

虽然在术语方面似乎是有矛盾的，但称之为**被动扩散**（passive spread）的现象在主动反应的传播中起着极为重要的作用。让我们根据膜电位的超极化作用，首先看一下被动的扩散。假定用隔开一定距离的若干个微电极穿刺到轴突，并且经过一个微电极注入超极化电流。正如在图 3-8a 中所显示的，在所有电极上都可以观察到电压的变化，但是在刺激电极处最大，随着与此电极距离的增加振幅减小。当绘制的电压反应的振幅作为与刺激电极距离的函数时，可以看出随着距离的增加振幅呈指数下降（图 3-8b）。换句话说，电压的变化确实是从一个点到另一个点进行扩散，但它是随着距离而衰减，直到最终它变成如此之小，以致于无法检测出来。这种现象称之为被动扩散，因为它能在死亡的轴突或甚至于在具有类似性质的电缆上显示出来。

电压变化衰减的程度取决于膜的**空间常数**（space constant）λ，空间常数定义为电压变化下降到其开始值的 1/e 的距离。在某一距离 d 上的电压 V_d 可以按 0 距离上的电压 V_0 和空间常数来描述：

$$V_d = V_0 e^{-d/\lambda}$$

不同轴突的空间常数可以有显著的变异，它尤其取决于轴突的直径和轴突膜的分子特征，特别是轴突离子通道的组成。

对于超极化作用方面的见解也可以很好地用来描述弱小（阈下）的去极化电压变化的被动扩散。但是当局部去极化作用超过阈值时，情况就呈显著的变化。阈上去极化作用自然诱发出很大的电压变化，即动作电位。当动作电位沿着轴突扩散时，这个很大的电压变化具有衰减现象，正如较小的去极化作用或超级化作用那样。但是因为局部去极化作用如此之大，以致被动扩散足以使轴突邻近区域去极化达到阈上水平（尽管随着距离发生衰减现象），而在靠近原发位置的地点产生一个完整的动作电位（图 3-9）。轴突的每一小区域都重复着这种过程直到动作电位传遍轴突的全长。一个常用和极其适宜的类似物是炮竹的**导火线**（firecracker fuse），在这里，导火线的一个点上点火就引起邻近节段超过其点火温度，这样持续进行直至导火线顺着燃烧到其末端为止。

为了扼要总结所论述的轴突信息的传输，现将能使动作电位携带着信息精确如实地从神经元的一个部位传到另一个部位的轴突膜的若干重要特征概括如下：

（1）轴突膜存在着产生动作电位的**阈值**，以保证膜电位中小的随机的变异不被误解为有意义的信息；

（2）**全或无定律**确保一旦产生了动作电位，便永远是完全的，以使信息沿着此途径丢失的可能性减少到最低限度；

（3）**强度-潜伏期相互关系**和**不应期**与阈值一起使信息能以**频率密码**的形式进行编

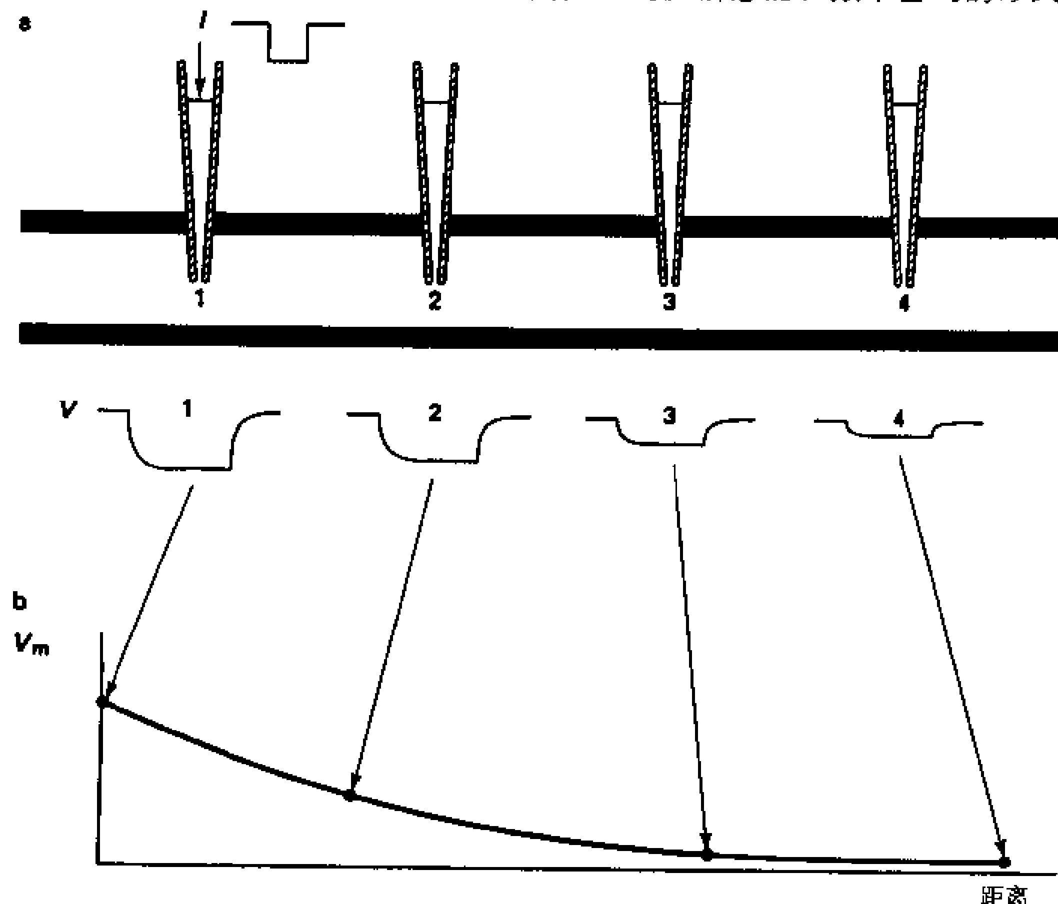


图 3-8　被动扩散。a：当电流（I）被注入到轴突中的一个点（1）时，可以在该点上测量到电压的变化（V）。在离开一定距离的轴突其他部位中的电极（2，3，4），测得较小的电压变化。b：在整个长度上电压递减的示意图。

码。

(4) **被动扩散**现象，它只是由轴突膜的电缆样性质所产生的，允许动作电位沿着轴突传播和使信息在神经元内进行长距离的转移。

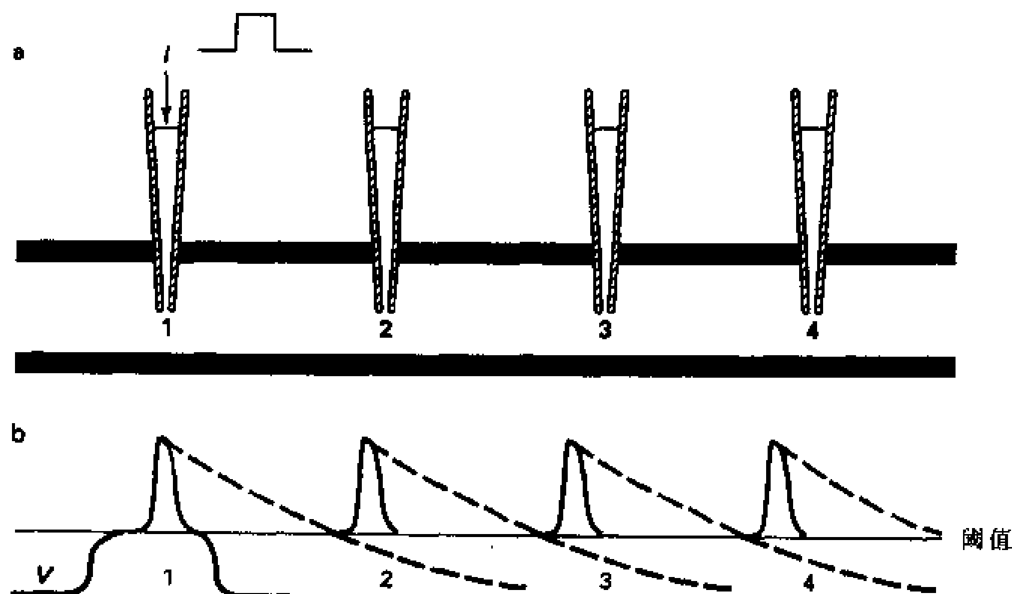


图 3-9 动作电位的传播。虽然在一个点上由动作电位引起的很大的电压变化随着距离而减小(虚线)，但是扩布到轴突邻近区域的去极化作用仍然是阈上的。因此，在轴突每一点上都产生完全的动作电位。

动作电位沿着有髓轴突进行跳跃传导

在第 2 章我们已经提及，动作电位沿着轴突传播的速度一定程度上是由**髓鞘形成**(myelination)所决定的。这种现象是由于髓鞘是作为极好的电绝缘体而起作用的缘故，髓鞘是由大量缠绕在轴突上的神经胶质细胞膜层组成的，轴突和髓鞘之间的空间没有含离子的细胞外液，也没有电流在髓鞘形成的区域中跨轴突膜进行流动。但是不要忘记，髓鞘在 Ranvier 结处有规律地中断（图 2-4），在这些结处，实际上存在着我们已经讨论过的离子传导路径。因此只有在结处才能够产生动作电位。动作电位去极化作用沿着有髓部分的被动扩散能够引起邻近的结超过阈值，允许动作电位沿着轴突从结到结地进行“跳跃”传导。自然界设计了带结的有髓轴突，这些结彼此隔开约 1～2 mm 的间距，以致在一个结上产生的去极化在其抵达下一个结的时候，仍然很明显地超过阈值。换句话说，轴突膜的空间常数和结之间的间距相互协调，以保证动作电位的传播。髓鞘的高电阻迫使电流顺着轴突向下移动，而不能跨轴突膜泄漏出来，因此髓鞘本身对空间常数是起重要作用的。稍后我们将看到**电压依赖性钠通道**(voltage-dependent sodium channel)是一种特殊种类的离子通道，它在轴突中动作电位的产生和传播中起着根本的作用。钠通道并不是在整个轴突胞浆膜呈均匀的分布，而是在结处呈高密度聚集，在两个结之间髓鞘下的膜中分布稀疏。这些因素合起来使动作电位从结到结进行跳跃，以最小的程度使用离子通道或耗能泵来完成传导。

跳跃传导（saltatory conduction）（源自拉丁文 saltare，意思是跳跃或舞蹈）的意思是允许有髓轴突以比相同直径的无髓轴突快许多倍的速度进行传导。神经系统的某些疾患，其中了解得最清楚的是**多发性硬化症**（multiple sclerosis），其特征是某些有髓轴突丧失髓鞘。这些脱髓鞘的疾病可能发生严重的后果，因为它可以引起轴突传导的减慢（有时则完全阻滞），对于这一脱髓鞘轴突所参与的神经通路产生破坏性的影响。

由于已经讨论了对于产生和传播动作电位的那些最基本的轴突特征，现在我们将可以看到神经元通常不是仅发放单一的动作电位，也不是发放恒定频率的一串动作电位。更确切地说，它们可能表现出更复杂的时序放电形式，这些形式是与神经元必须完成的特定任务相适应的。

神经元电活动的不同型式

神经系统不同区域内的细胞在其形态及其电和生化方面的性质都是极其多种多样的。在本章的第一部分我们描述了典型轴突中动作电位的产生和传播。即使像动作电位这样的基本现象，在不同的神经元中的形状和大小都可能有差异（图 3-10）。此外发放的动作电位的**型式**（pattern）在不同的神经元中也表现出多种多样（图 3-11，3-12）。再者，这种多样性反映了膜中离子通道的差异。当人们考虑到神经元必需要控制那些各式各样形形色色的不同行为和生理功能时，对于电方面和其他许多性质的多样性，就应当不会感到惊奇了。举例来说，控制快速视觉反射或迅速逃避行为的那些神经元通路和个别神经元，与控制那些缓慢行为，包括呼吸、摄食和生殖的那些神经元都是以极其不同的方式构筑的。在本章中，我们将描述在神经细胞中所遇到的某些不同样式的放电类型。此外，我们将提供在神经元电性质方面如何**改变**（change）以使其能够调节不同类型行为的某些例子。

当人们将目光转移到神经元的细胞体或树突时，注意到我们已经描绘的轴突信息传

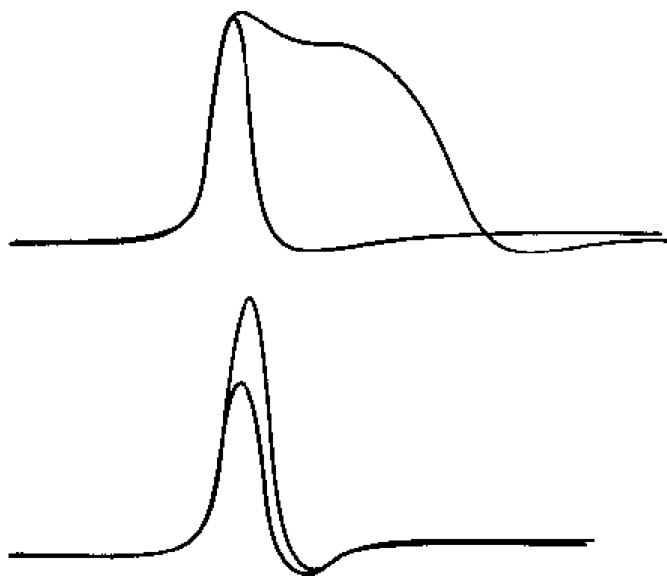


图 3-10 不同神经元中动作电位的不同形状。当记录不同神经元的电活动时，可见不同振幅和时程的动作电位。

递的相当简单的图像就变得愈益复杂了，认识到这一点是很重要的，长期以来认为**树突**（dendrites）只不过是从其他神经元接受信息的一种被动成分，现在认为它能够产生动作电位并能够以复杂的方式参与神经元的信号传导。而且某些细胞体则全然不发放动作电位——它们被说成是**非电兴奋的**（electrically inexicitable）——它们是以更为精巧的方式参与电信号的传导。甚至于在那些能够发放动作电位的细胞体中，可能依然存在着更为微妙的机制，导致比在轴突中通常看到的更为复杂得多的电活动形式。

静默性、脉动性和爆发性放电神经元

虽然产生动作电位对神经元传递信息的能力是基本的，但是还存在着许多其他方面的电性质，这些性质在使神经元调控输入和输出中起着重要的作用。某些神经元在缺乏外界刺激时具有稳定不变的静息电位，就是说，它们是**静默性**（silent）的（图 3-11a）。但是，另外一些神经元则产生各式各样的内源性电活动形式。举例来说，某些细胞以恒定的频率重复性地发放电活动，即它们是**脉动性**的（beat）（图 3-11b）。这种神经元有时也被称作定**速神经元**（pacing neurons）。虽然外界刺激作用能够改变细胞的爆发速率，或完全地使其抑制，但引起重复性发放的机制往往是神经元本身内源性发生的，而且不需要连续的突触活化作用或其他外界刺激。

在缺乏外界刺激作用而自发放电的某些神经元，不是以固定有规律的间隔发生放电，而是产生由膜超极化作用所分隔开来的有规律的爆发样动作电位，正如图 3-11c 所

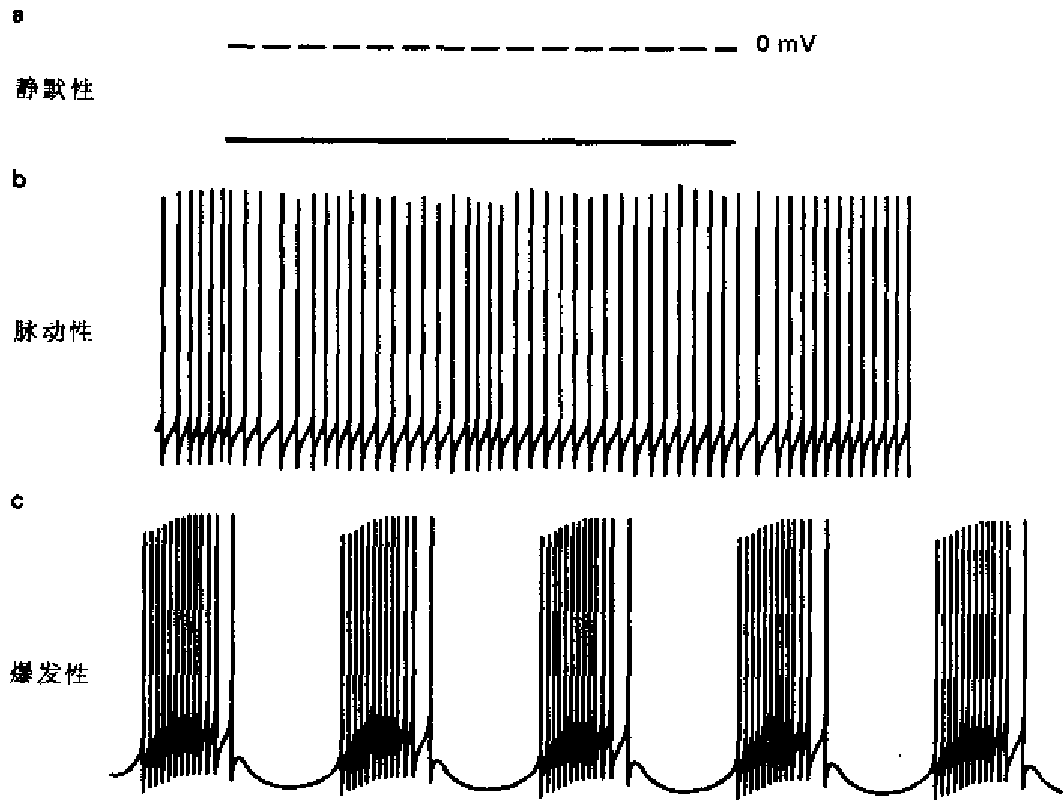


图 3-11 内源性电活动的不同形式。某些神经元完全不能自动地发放（a）。另一些神经元可能呈规律的脉动性发放（b）或爆发性的（c）发放。

示的。这种细胞名为**爆发性神经元**（bursting neurons）。神经系统至少以两种不同的方式利用神经元这种重复性爆发性放电的能力：

（1）爆发性神经元产生节律性的行为。许多基本的行为，诸如呼吸、走路、游泳和咀嚼食物，都需要对一组肌肉进行连续节律性的激动作用。在产生这种节律性运动输出的神经元环路中都可以发现簇状样放电的许多例子。虽然在许多场合中爆发的精确形式和时间分布，甚至它们的产生，可能受着若干不同的神经元间的相互作用的调节（见第17章），但是对于在缺乏外界输入条件下持续爆发的特定神经元来说，这种产生爆发的能力也可以是内源性的。

（2）爆发性神经元用以分泌神经激素。神经元除了对其他神经元或肌肉细胞产生直接影响外，还可以分泌激素到循环中。图3-11c表示海洋软体动物**海兔**（*Aplysia*）分泌肽类激素的神经细胞的爆发性活动。与许多其他软体动物的神经元相似，这个神经元是很大的，而且根据形态、生化和电活动的标准可以很快地加以鉴别。据此，给这些细胞一定的名称；这种细胞称为R15神经元（见图12-4），已被作为爆发性神经元的模型进行了广泛的研究。在位于哺乳动物脑的下丘脑区域中的**大细胞性神经元**（magnocellular neurons）（见图9-11）可以发现这种爆发性活动的另一个例子。各个大细胞性神经元含有**加压素**（vasopressin），或者含有**催产素**（oxytocin），这两种肽类激素分别是用于控制**水贮留**（water retention）和**泌乳作用**（lactation）的。由于尚不完全了解的缘由，似乎爆发式的电活动，诸如在大细胞性神经元和R15神经元中爆发式的电活动，比稳定的定速形式的放电作为引起肽释放的细胞内机制的刺激，是更为有效的（见第7章）。

神经元对于持续刺激作用的反应

到目前为止我们已经讨论了属于**内源性**的那些神经元的活动形式。但是神经元往往是取决于外在的刺激，例如从其他神经元来的突触刺激的连续扰动。通过细胞内微电极给予的持续去极化作用或超极化作用可以实验性地模拟这种连续性的刺激作用。图3-12中说明了神经元对去极化刺激可能产生的三种不同的反应方式，正如在本章第一部分中所描述的，细胞在整个刺激作用时期重复性地产生动作电位，并具有反映刺激强度的恒定频率（图3-12a；也见图3-7）。另一方面神经元只是在刺激开始时可以爆发单一的动作电位，此后仍然保持静息（图3-12b）。这种反应有时称之为对刺激的**顺应**（accommodation）。最后，神经元在刺激开始时不放电，而只是在延迟之后才能够产生动作电位（图3-12c）。在这种场合中，短时期的刺激作用不能触发此细胞产生任何动作电位。

各式各样的细胞，例如中转从环境到中枢神经系统感觉信息的那些细胞，可能表现出前两种反应的方式。在这种感觉神经元的顺应中将引起**行为的习惯化**（behavioral habituation），通常可以观察到在连续感觉刺激期间反应发生递减（见第18章）。相反，只对过强刺激作用发生反应的那些细胞，可预期发生第三种方式。**海兔**墨腺的运动神经元提供了这方面清晰鲜明的例子。海兔的墨汁释放是对强烈的伤害性刺激，如穿刺皮肤的机械性刺激，所发生的一种防御性反应。据认为压挤出的墨汁可以造成周围的水域朦胧黑暗，给动物提供了隐蔽的伪装，使其能够潜伏不被发出刺激的捕食其他生物的动物所察觉。控制墨腺的神经元正常时并不活跃，它们对于小的或瞬时的刺激不发生反应；

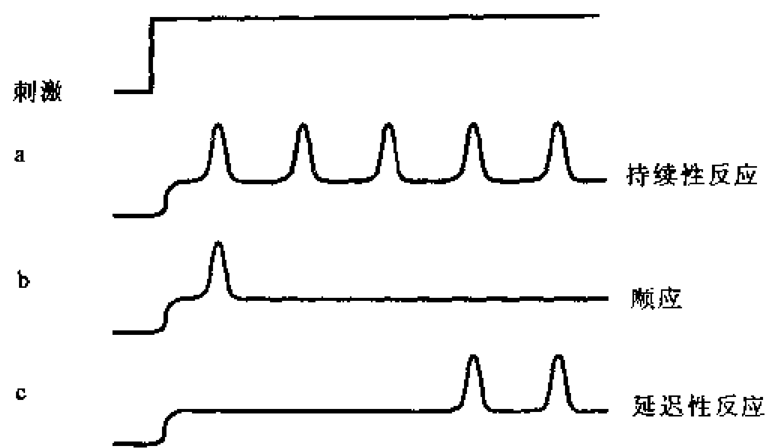


图 3-12　对持续性刺激的不同反应。某些神经元对持续的去极化刺激的反应为持续性应答（a），如同图 3-7 中所示。另一些神经元在发放一个或数个动作电位后停止反应（b），也可能只是在延迟以后发放动作电位（c）。

只是当它们接受很强和长时伤害性刺激所产生的连续的突触传入才开始发放。根据这些神经元膜中个别离子通道的性质，这种延搁动作的机制是可以理解的（见第 6 章）。

刺激可能改变神经元的电特性

为了应答比上述持续性兴奋更为敏锐的外界刺激，可能也存在着对神经元性质的**长时程调制**（long-term modulation）。几乎没有多少由神经系统所控制的行为，在动物的整个生活期间是保持固定不变的。举例来说，摄食和生殖行为必定是在适当的时候开始和终止的。对于触觉刺激而发生的防御性或逃避性反应可能是适应性的，在这一个时间有，在另一时候就没有。甚至于不可或缺的基本生理功能的一些特征，如呼吸，为了对外界刺激应答也可以发生改变，动物行为中发生如此的一些变化在很大程度是因为控制这些行为的神经元的电特性发生改变的缘故。突触或激素的刺激作用可在动作电位的形状、神经元放电的内源性形式或在细胞对其他许多外在刺激反应的方式方面既能产生短时程变化，也可能产生长时程变化。在第 12 章中，我们将相当详细地讨论引起神经元电特性调制作用的机制。

小结

在神经细胞中细胞内信号传导的语言是电。神经元存在着称为跨胞浆膜的膜电位的电位差，并以动作电位的形式，即以膜电位很大和迅速可逆性的波动，携带着信息从细胞的一个部分到另一部分，沿着轴突进行传导。由于动作电位是全或无的事件，它们的振幅几乎不携带有关触发动作电位刺激的信息；而与动作电位产生和扩布有关联的若干基本膜特性则允许以**动作电位放电频率**（frequency of action potential firing）的方式来编码关于刺激强度的信息。

不同的神经元表现出不同的动作电位放电形式。某些神经元在正常状态下是静默的。即除非某些外界刺激触发动作电位的放电外，这些神经元的膜电位始终保持在静息电位的状态，并且当刺激不再存在时，它们就又恢复原来的非放电状态。但是许多神经元表现更为复杂的内源性电活动，往往在没有外界刺激的条件下，以规律的形式发放动作电位。在某些情况下，根据神经系统所赋与神经元的特殊功能，解释内源性活动的形式是可能的。

最后，神经元的电特性不是固定不变的，而是受着由环境输入的调制。这包括从外界来的感觉信息，从机体其他部分所释放的激素，以及从与该神经元在功能上有联系的其他神经元来的化学及电信号。神经元性质的这种调制作用具有基本的意义，因为它使动物的行为和反应适应不断变化着的环境。

4

膜离子通道

神经细胞（实际上是所有细胞）的电活动取决于小的无机离子所携带的电荷跨胞浆膜的运动。在第3章已经描述的现象，例如膜电位、动作电位的发放、复杂时序形式的动作电位的簇群，所有这些都是起因于这种跨膜的离子流。此外，由外在刺激所引起的内源性电活动的调制也涉及到跨膜离子流的变化。但是离子能够跨胞浆运动究竟是怎样进行的呢？胞浆膜的脂质双层是一个极好的电绝缘体，而且对于荷电的物质，在很大程度上是不通透的。需要大量的能量驱动离子通过双层膜的疏水内部，据此细胞必须形成特殊的结构，允许跨膜**离子电流**（ion current）进行流动。

离子跨越胞浆膜的一种方式是通过能量驱动泵或载体（energy driven pump or carriers），它们利用ATP的能量以克服由胞浆膜所构建的能垒（energy barrier）[1]。这种泵或载体是蛋白质，它可以在膜的一侧装载离子，物理性地将其转运跨越双层，并在另侧释放它。因为在这种过程中是以ATP水解的形式消耗能量，所以逆着浓度梯度使离子移动的这种主动转运过程是可能的。

虽然泵和载体对于许多细胞的功能是必不可少的，但是在绝大多数神经细胞的电信号传递作用中仅仅是起支持的作用。表演的明星则是**离子通道**（ion channel），一类普遍存在的跨越胞浆膜的特化的膜蛋白。它们形成了亲水性的孔道，通过这些孔道离子从膜的一侧顺着其电化学梯度轻易地流动到另一侧（见图3-1）。现在我们将讨论测定离子通道活动的方法，并且叙述由这些测定而推论出的某些通道的基本性质。然后我们将考虑离子通道蛋白的已知的分子结构是什么，以及它们的功能是怎样与它们的结构相关的。

离子单通道

20世纪50年代中期，离子电流能够通过膜中亲水性小孔进行流动的可能性被第一次提出。虽然这个观点已被广泛接受，但是过了20多年人们才能够直接测定离子通道的活动。这一突破性进展是由于**单通道记录**（single channel recording）的出现，这是一种既可以在它们的天然膜中，也可以将通道嵌入由磷脂构成的人工双层膜中后来测量各个离子通道活动的方法，其最重要的发展是**膜片钳记录**（patch clamp recording）（图4-1）。这种技术是由Erwin Neher、Bert Sakmann及其同事所发展的，它能使通过细胞

1）能垒（energy barrier）：为进行一个给定的反应，化学体系所必须具有的最小自由能的量。——译者注

膜中离子单通道的电流进行直接测量。靠这种革命性的创新方法所获得的资料使我们在了解神经元（和其他细胞）离子通道的性质方面获得了惊人地进展。由于创立这种方法的成就，Neher 和 Sakmann 被授予了诺贝尔（Nobel）奖。

为了实现膜片钳记录，需将微米级内径的玻璃吸管或其尖端达这样内径的玻管置于紧靠细胞膜上。对吸管内侧进行抽吸可以导致玻璃管和膜之间电的封接。这种封接变得如此紧密，以致有效地防止了离子经过这些地方泄漏出去。依赖于吸管下膜片的精确大小以及膜中离子通道的密度，可以分离出一个或多个离子通道蛋白。由离子经过这些通道进出细胞流动所携带的电流，可以通过连接到电极内侧的灵敏**电流-电压变换器**

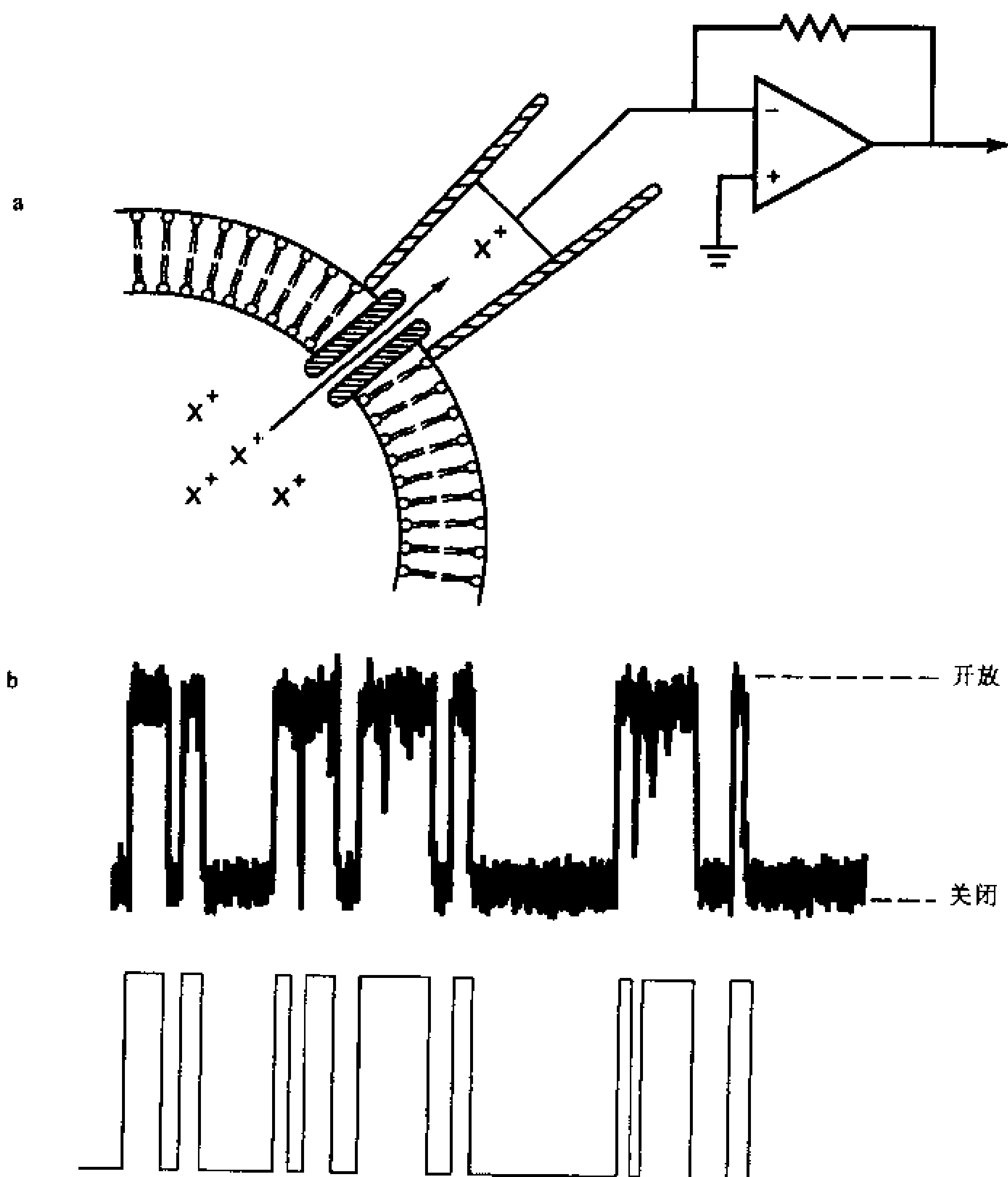


图 4-1 离子单通道活动的膜片钳记录。a：细胞贴附式膜片钳记录的图示说明，附带和电极相连的电流-电压变换器（Hamill et al.，1981）。b：用上述方法获得的离子单通道活动记录的例子。c：简单的计算机程序可以用于产生理想化单通道记录，它如实地复制了在实际记录中所看到的开放和关闭状态。

(current-to-voltage converter) 来检测。

就目前为止已经记录的所有离子通道的活动而言，单通道膜片钳技术揭示了开放状态和关闭状态之间的快速转位，在开放状态期间有可检测到的经过通道的电流，在关闭状态期间则没有电流流动。这些功能状态是离子通道蛋白**稳定构象**（Stable structural conformations）的表现形式。图 4-1 表明了实际的通道记录（b）和通道开放与关闭理想化描述（c）结合在一起的一个例子。向上转位是离子单通道的开放，向下转位是离子单通道的关闭。计算机产生的理想化记录没有噪音，因此适用于通道活动的计算机辅助的定量分析。

为了某些目的可能需要接近膜片膜的细胞内侧和细胞外侧。在细胞贴附式膜片钳记录技术中，改变吸管中细胞外液体介质的成份是可能的，但是对膜片膜的内侧不能直接接近。幸运地是单通道膜片记录的其他方式则存在着完全可以提供膜片膜内侧和外侧的操作。膜片钳这两种不同的变体则名之为**内面向外和外面向外**（inside-out and outside out）游离细胞的膜片膜记录，在图 4-2 对这些方面进行了图示说明。这两种技术取决于玻璃吸管和细胞膜之间的封接，不仅在电的方面是紧密而不泄漏的，而且在机械作用上也是紧密的。据此，当细胞贴附式膜片吸管从细胞上迅速拉开时，这种膜片往往和吸管一起与细胞脱开。在内而向外的构形中，胞浆膜表而暴露在浸浴的介质中，而外面向外的膜片外而的膜表面是可接近的。在这样游离于细胞的膜片中，许多离子通道能够存活很长的时间，并能很容易地全面研究通道性质。

通过离子通道的离子流是快速的

从事单通道电流的这种测定不能认为是一件普通的工作，它是真正令人惊异的事件。离子通道是蛋白质，当我们测定单离子通道开放和关闭这样的活动时，我们就可观察到单个蛋白质分子的活动！可以把它和试管中标准的酶检测法相比较，这种方法测定的是大约 10^{10}或更多蛋白质分子活动的总量。能够进行单通道的这种测量，部分原因在于现代电子学的进展；可以应用能够测量小达 10^{-13}A（0.1 pA）电流的电流电压变换器，换句话说，存在着离度灵敏的离子通道的检测方法。但是，如果离子经过通道的速率不是非常快的话，这种方法的灵敏度对于测量单离子通道电流是不够的。

正如图 4-1 所说明的，流经过离子单通道流动的电流一般是在 1～20 pA 范围。这相当于每秒经过通道约 $0.6\times10^7\sim12\times10^7$ 个离子。如果我们将离子通道作为酶，则酶的工作是催化离子转运，因此酶的**催化速率**（turnover rate）是每秒 $10^7\sim10^8$ 数量级的反应，对于大多数酶的催化速率来说是每秒 10^2 数量级，最快的是在每秒 10^5 范围内。主动转运系统的转运速率在每秒 $10^2\sim10^4$ 范围内；当然它们具有理论上的限制，大约每秒 10^5 反应，因为能物理性地运送离子跨膜必然消耗时间。

离子通道的这种非常高的转运速率可引出这样的基本结论，它们介导的离子转运，必定是经过小孔通过扩散进行的。我们能够测定单通道事件这一事实，就必然得出这个结论；单一载体电流可能比大约 10^{-3} pA 还要小，以现代所使用的技术是不可能检测到的。这样进而就允许我们给出一个离子通道的图画（见图 3-1），将通道作为嵌入膜的亲水性的一个孔道，这个图示如果在细节上不是很精确的话，在一般轮廓方面肯定是精确

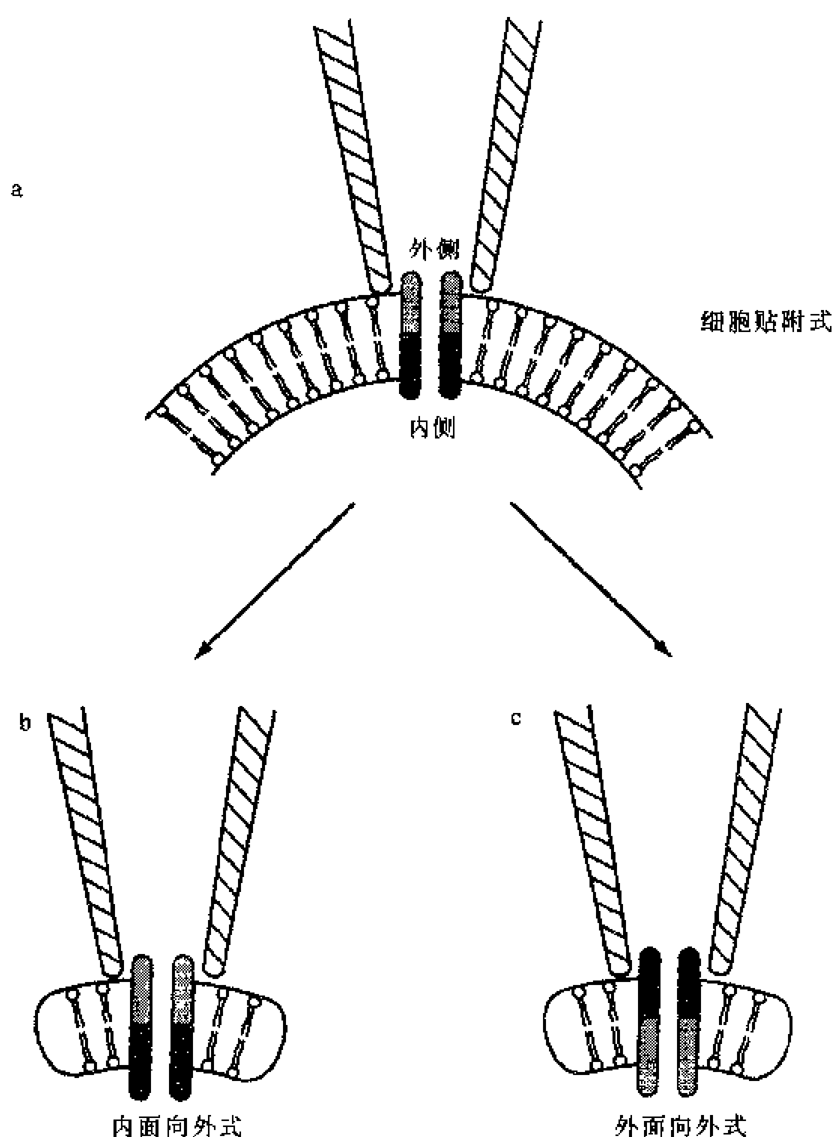


图 4-2 分离膜片。因为膜电极和胞浆膜之间的封接在机械上是稳定的，(a) 使电极拉开脱离细胞，膜片膜仍然保持贴附在电极上。根据所完成条件的不同，人们既可以获得内面－向外式膜片 (b)，也可以获得外面向外式膜片 (c)，前者通道的胞浆部分（深灰色）暴露到浸浴介质中，后者通道的细胞外部分（浅灰色）暴露在浸浴介质中（参阅 Hamill 等，1981）。

的。令人惊异的是，尽管我们还没有对任何离子通道适用的高分辨率的蛋白质结构的资料，但我们还是能够描绘出通道的轮廓。在第 10 章所叙述的烟碱型乙酰胆碱受体/通道最近已经得出了中等分辨率的结构数据。这些数据证实了长达 20 年以前由电生理学所推断的通道的一般轮廓。

不同种类的离子通道

存在着许多不同类型的单一离子通道的活动，甚至于在单个神经元的膜中也存在着不同类型的通道活动。根据下述若干不同的标准可以将它们加以分类，这些标准包括：

(1) **单通道电导**（single channel conductance），它是离子经过开放的通道的速率指标；

(2) **离子选择性**（ion selectivity）：能够通过开放的通道的离子的性质；

(3) **门控**（gating）：在许多因素，如跨膜电压，神经递质、激素和其他作用物对通道外侧位点的结合，以及某些细胞内的代谢物和酶的影响下，通道发生的开放和关闭；

(4) **药理学**（pharmacology）：通道对能阻滞小孔或影响通道其他性质的各种化合物的**易感性**（susceptibility）。

单通道电导　　跨膜片电压可以设定到不同的水平，将经过开放通递的电流大小（图 4-3a）与电压作图，正如图 4-3h 中所完成的。对于许多通道来说，在很宽范围的电压内都可以获得一条直线。这样的作图提供了两个材料：通道的**单位电导**（unitary con-

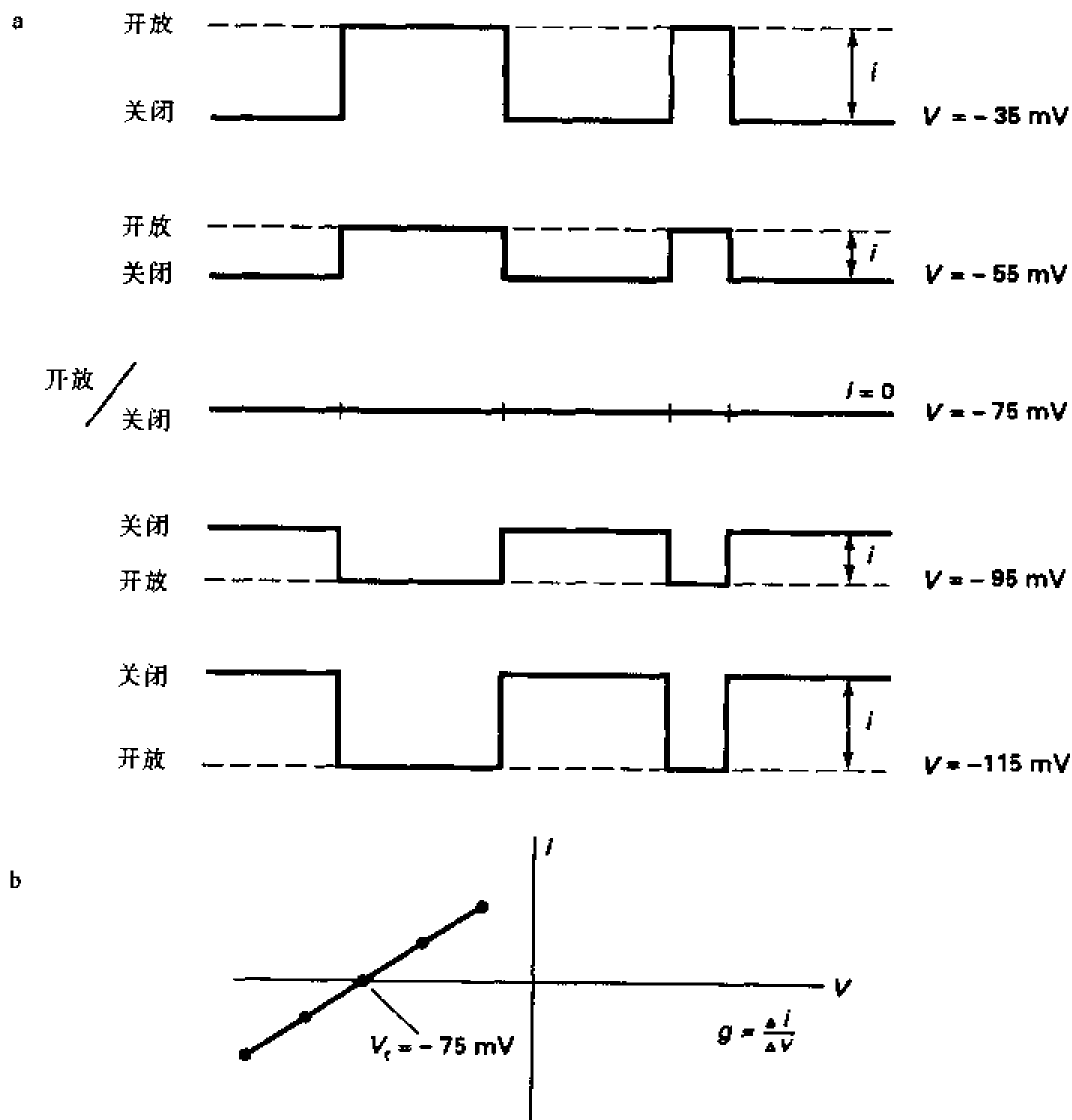


图 4-3　欧姆定律决定单通道电流的大小。a：经过单离子通道的电流振幅（i）随着跨膜电压的变化而发生变化。b：单通道电流振幅作为电压的函数所作的图示。在反转电位（V_r）时，电流为零，等于通过通道离子的平衡电位。在下一章将讨论平衡电位。

ductance）和流经通道的电流的**反转电位**（reversal potential）。后者可以使我们得出这样的结论，该离子是能够通过这个通道的。

通道的电导是经过通道的电流流动容易程度的指标。我们知道电导 G 是电阻 R 的倒数。电导是和通透性密切相关的，它是我们用于描述离子跨质膜运动容易程度的一个术语。单位电导或单通道电导（g）是开放通道的电流对电压作图的斜率（图 4-3b）。根据下式给出：

$$g = \Delta i/\Delta V$$

这个方程式简直就是欧姆定律，我们在第 5 章将更详细地讨论物理学的这一基本定律。当 i 以安培表示，V 以伏特表示，电导的单位是西门子 S（Siemens）[1]或欧姆的倒数（注意 i 常常用于表示经过单通道的电流，I 是宏观或总膜电流；与此相似 g 是单通道电导，而 G 是宏观膜电导）。单通道电导通常是用皮西门子（pS，10^{-12}S）表示。迄今为止所测定的生物膜中通道电导通常是在 5～400 pS。

离子的选择性　关于离子通道另一项重要的特性是当通道开放时正常流经此通道的离子性质。通道能够**选择**一种离子而不选择另一种离子。举例来说，生物膜中的通道将允许一些阳离子流动或是允许一些阴离子流动，但是不能对两种离子都进行流动。在这些类别众多的阳离子和阴离子通道范围内，绝大多数通道也只是选择一种个别的阳离子或阴离子进行通透。举例来说，我们将可以看到动作电位是取决于轴突中存在的两种不同阳离子通道，一种是对钠离子的高度选择，而另一种是对钾离子的高度选择。选择性是离子通道的一个基本的性质，以致常常根据通道所特异通透的离子来命名通道（例如**钠通道，钾通道，钙通道，氯通道**）。

离子通道是如何选择这一离子而不选择另一离子，从而经常显示这种精湛微妙的选择性呢？因为通道远不仅仅是膜中简单的孔洞。但是，详细讨论通道选择性的机制已超出本书的范围，因为在任何情况下对这一主题的最后说明，将不得不等待取得高分辨率的蛋白质结构的材料。但是一系列巧妙的测定已经提供了对这一问题的见解，几乎肯定会在将来被结构研究所证实。通过仔细地测量一系列在轴突钠通道中很难通透的有机阳离子，已确定小孔中最狭窄处的大小。对于钾通道也进行了类似的测量。从这些研究中得出了这样的基本结论，一个离子和与其强力结合的水分子外壳一起，必须紧密适合这一最狭窄区域，即所谓的**选择性滤器**（selectivity filter），才能通过它（尽管选择性比这一点要复杂得多）。这一早期电生理学测量所得出的结果，即通道小孔中的某一区域必定存在狭窄区，已经被烟碱型乙酰胆碱受体/通道的中等分辨率的结构地形图所证实（见第 10 章）。

门控　现在要证明的是离子通道并不是膜中简单呆滞而无生气的小孔。确切地说它们是动力学的统一体，它们在开放状态和关闭状态之间能够进行极快速的转换，在开放状态它们导通离子，而在关闭状态它们便不允许离子通过。这种开放/关闭的转换，在单通道记录中很容易表现出来，正如在图 4-1 中所显示的那样，这种转换必定反映了

1）Siemens：西门子，电导的 SI 单位，欧姆的倒数，缩略语 S。——译者注

通道蛋白质中的构象变化。

通道的开放和关闭常常称之为**门控**（gating），因为以我们朴实的话来说，我们愿意把离子通道的图像简化作为一个小孔（图 3-1），并包括带有铰链的门，推测它是通道蛋白的整合部分，它可以摇摆开放允许离子流动，或关闭防止离子流动（图 4-4a）。蛋白质的这两种状态处于动态平衡中，每种状态通道耗费的时间量则取决于两种状态的自由能的相对数值。自由能进而可以被容易检测的数量，即通道开放和关闭的**速率常数**（rate constants）[1]来反映（图 4-4a）。

离子通道门控可能受各式各样的外界条件的影响。我们常常说这些条件引起通道"开放"或"关闭"，但是我们真正表示的意思是开放和关闭状态的相对自由能发生了变化，以致通道比以前更开放或封闭，这在单通道记录中显示为开放或关闭的速率常数的改变，或有时关闭与开放二者速率常数均改变（图 4-4b）。

电压依赖性门控　许多通道，特别是形成神经元的正在进行的电行为的那些通道，是**电压依赖性通道**（voltage-dependent channel）。这些通道开放和关闭的频率取决于膜电位。正如我们将在下一章所看到的，当使跨膜电压正一点时不同类型的通道可以或者增加、或者减少它们在开放状态的时间量。图 4-5a 表明了在不同的膜电位时电压依赖性离子通道的行为。在负电位如在细胞的静息电位时，通道很少发生开放或完全不开放。当电位成为正时，通道开始开放，直到电位比大约 + 20 V 更正时，通道被完全激活。注意此处很重要的一点是通道花费在开放和关闭状态的时间量。通道开放电流的振幅也是以图 4-3 中所描述的方式，随着电压而改变，但是在本章范围内这并不重要（这一点将在第 5 章中详细地讨论）。图 4-5b 是作为电压函数的开放概率曲线。各个数据点形成 S 形的曲线，曲线的陡度反映了通道对电压的敏度性。

通道开放和关闭对电压的敏感性的结构基础是什么呢？图 4-4 中所描绘的、假定的门必定是作为**电压传感器**（voltage sensor）来检测跨膜的电场强度。可以设想通道蛋白的这一部分具有一定的净电荷，并在电场的影响下可以移动，使通道小孔开放或关闭，因此允许或防止离子的流动。在第 6 章中，我们将考虑在不同类别的电压依赖性离子通道中，在确定电压传感器方面所取得的进展。

通过神经递质或细胞内信使控制的门控　许多离子通道的活动是和**神经递质**（neurotransmitters）的作用紧密相连的，神经递质是某一神经元释放的影响其他神经元活动的化学物质。其他一些通道的门控则受着细胞内信使分子或离子，例如钙离子的影响。在第 10 章和第 11 章中将详细讨论神经递质结合或细胞内信使影响通道门开放和关闭的途径。

单通道动力学　离子通道的进一步的特征可以通过测定平均开放时间和平均关闭时间来获得，因为开放状态和关闭状态之间存在大量转换。对于电压依赖性通道来说，

1）rate constant，速率常数：当所有反应物的有效质量为 1 时，每秒钟每立方米中摩尔数的变化所表示的反应速度。若反应 A + B→产物的速度 = K $[A]^x$ $[B]^y$，x、y 为分部反应级数，则 K 即为速率常数。——译者注

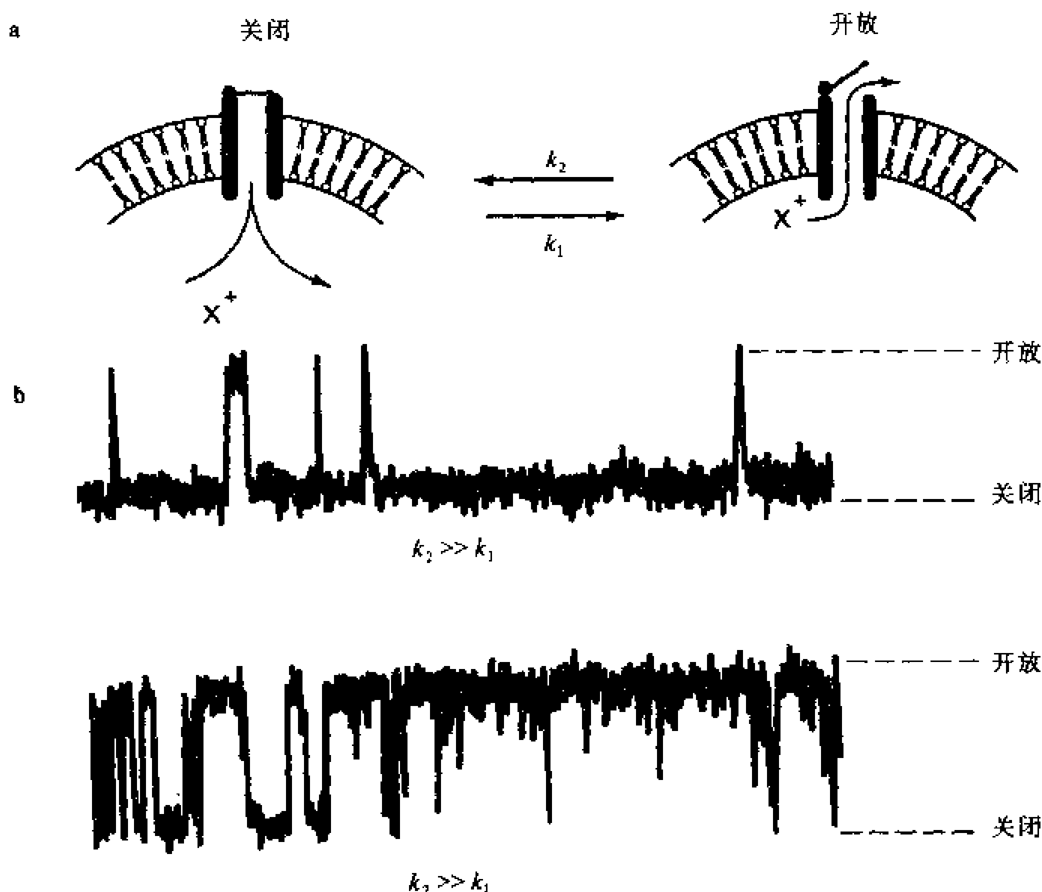


图4-4 离子通道的门控。a：离子通道被画作带有门控（门栓）的小孔，在关闭和开放状态之间有一个动态平衡，这是由开放（k_1）和关闭（k_2）速率常数所决定的。b：通道开放的时间比例取决于 k_1 和 k_2 的相对值。

必须在若干不同的电压条件下进行这些测定（如图 4-5），而且测定时的电压条件必须标明。直方图也能绘出许多既定时程的通道开放和关闭的数量。这种材料能够简单地模拟通道所产生的行为。在此我们将提供一个应用这种材料的例子。

某些通道表现“簇状开放”的动力学行为（图 4-6），这种行为并不能简单的根据单个开放和单个关闭状态之间的转换来加以解释。对该通道关闭时间的测定表明，通道关闭期可以分为两类——“短暂”的关闭时间和“长久”的关闭时间，前者表现为在一个簇状开放**期间**（during）内的通道短暂的关闭，后者表现为通道簇状开放**之间**（between）的时间。这种簇状开放行为的一种简单模型是由两个关闭状态，即 C_1 和 C_2 组成的。在簇状开放本身期间，通道在开放状态（O）和一个关闭状态（C_2）之间转换。但是偶而通道可以进入另一关闭状态（C_1）。从这种关闭状态恢复是很慢的，这是由于簇状开放之间时间很长的缘故。这种类型的简单模型使我们能够计算通道三种状态之间的每一种转换的速率常数。然后可以对膜电压，神经递质、药物，以及其他参数影响这些速率的方式进行分析。

激活与失活 电压依赖性离子通道动力学行为的一个重要的特征是它的**激活**

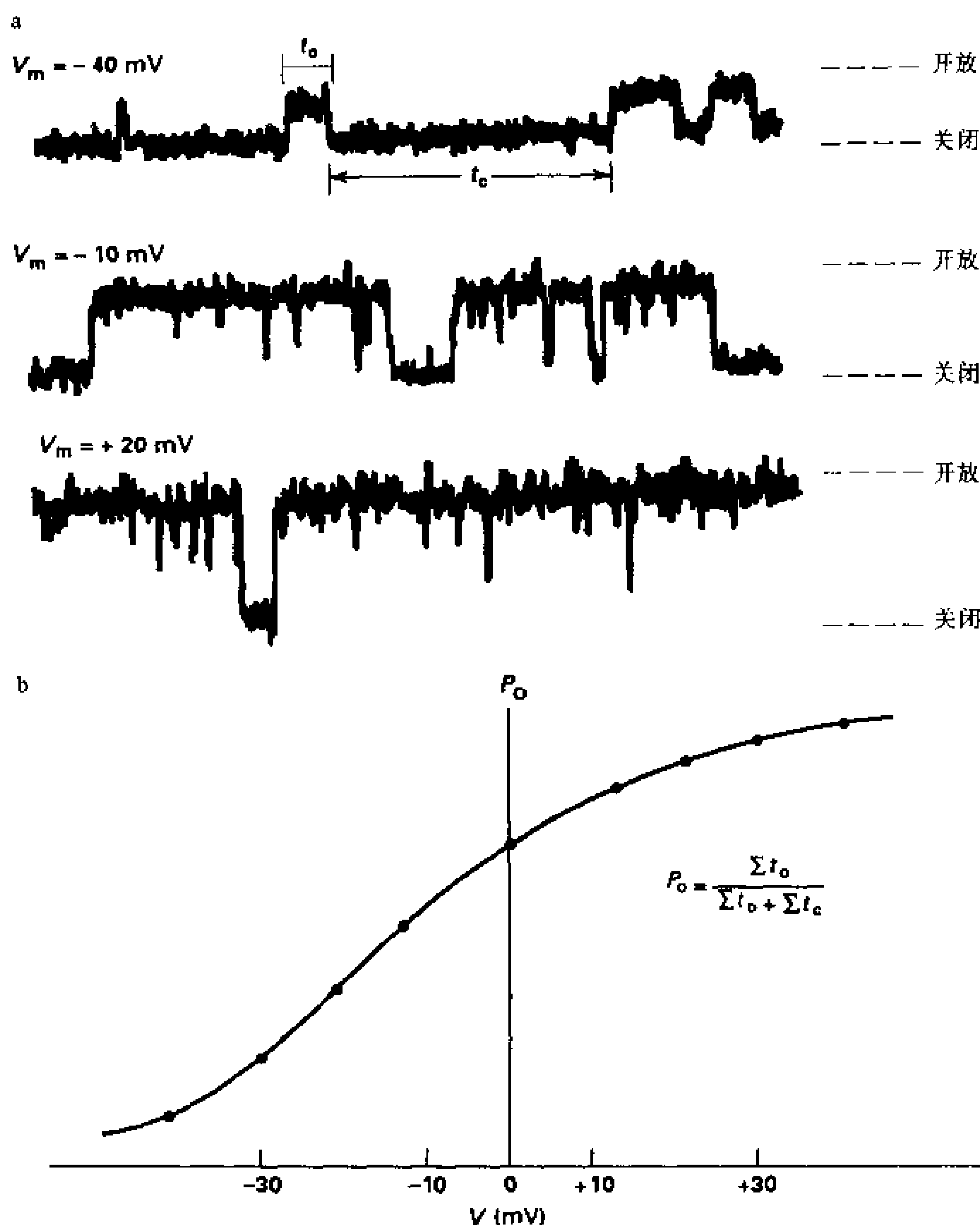


图 4-5 电压依赖性离子通道的门控。a：当改变膜电压时，通道开放（t_o）和关闭（t_c）变化所耗费的时间量改变。b：通道开放的概率（P_o）可由电压的函数绘出，由于在最大去极化电压条件下开放的概率最大，所以此数据符合 S 形曲线。

（activation）速率。当突然改变膜电位时，通道开放的概率（开放概率，缩写为 P_o）可以迅速地发生改变，直至在新的电压条件下达到一个新的稳态开放概率。通道开放概率的这种增加就是通道的激活。某些电压依赖性离子通道的激活速率——例如，钠通道是非常快的，在膜电压改变以后数毫秒内可达到最大（图 4-7）。但是，其他一些通道——例如某些钾通道，则表现出很慢的激活速率（图 4-7）。

对于神经元的电行为来说，和神经元不同通道的激活速率同样重要的是它们的**失活**（inactivation）速率。某些通道，一旦它们被电压变化而诱发开放，便在一个长时间中

保持它们开放的新速率。图 4-7 中说明的缓慢激活的钾通道情况就是这样的。但是其他一些通道，随着它们的激活，开放便开始进行性地减少。对于我们所说的电压依赖性钠通道，图 4-7 便说明了这一点（也见图 4-11 和 4-12）。通道活动衰减的速率则称之为失活的速率。绝大多数的钾通道也会发生失活，虽然它比钠通道通常要慢得多（见第 6 章）。因此通道的活动不仅是电压依赖性的，而且也是**时间依赖性**（time dependent）**的**。在最初的时间，电压依赖性的激活引起了通道开放，但是在后来的时间中开始失活占优势，最后通道是完全不开放，尽管仍然保持着去极化作用。正如我们将在第 5 章所看到的，各种不同的离子通道的失活在塑造动作电位的形状和决定许多神经元的电学性质中起着基本的作用。

药理学　正如本章余下部分所将要强调的，离子通道是蛋白质，并且一些小分子

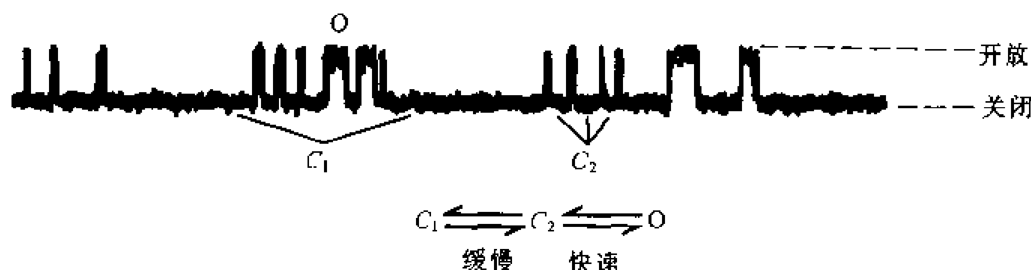


图 4-6　单通道动力学。根据一次开放和一次关闭状态之间的简单转位往往并不能描述许多通道的活动。某些通道表现出爆发性的动力学行为。如果通道具有一次开放状态（O）和两次性质不同的关闭状态（C_1 和 C_2）的话，那么就可以解释此处所表明的通道的这种行为。

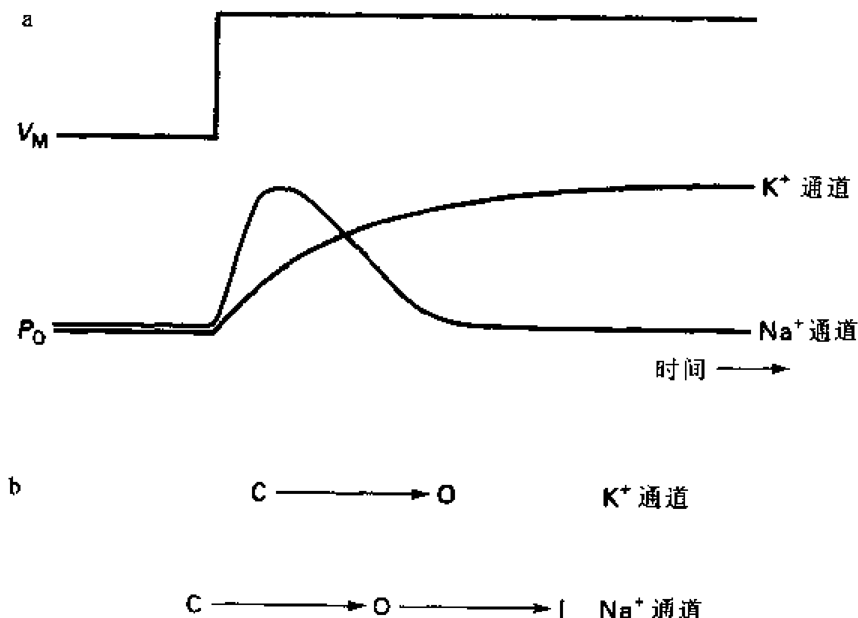


图 4-7　离子通道的激活和失活。a：对膜电压（V_m）突然去极化的反应，是钠通道开放的概率（P_o）迅速增加，然后再降低，尽管还保持着去极化作用。相反，钾通道的 P_o 相当缓慢地增加，并在整个去极化过程中仍然增加。b：可以解释 A 中显示的门控行为的动力学模式图。通道从非传导性失活状态（I）非常缓慢地恢复，这种非传导性失活状态对解释钠通道的门控是必要的。

对特异的蛋白质往往可以选择性地并具有高度亲和力地结合。虽然已知有针对许多不同种类的离子通道的小分子药理学探针，但是我们将以对轴突动作电位来说是基本的钠通道作为例子。正如表 4-1 中所综合的，许多生物用作自身防御性的毒素或征服其牺牲者的毒素，已被发展成为针对轴突钠通道的毒素。对于神经科学家来说最常用的这些天然产生的毒素是**河豚毒素**（tetrodotoxin，TTX），这种毒素是在**日本河豚鱼**（puffer fish）[1]——东方鲀（fugu）[2]中发现的，在细胞外液中纳摩浓度（10^{-9}mol/L），它就能与钠通道相结合，并能阻断钠经过通道的流动。据认为 TTX 进入钠通道的外口，并物理性地阻塞小孔。这种阻滞现象在单通道记录中显示为长时期的无通道活动（图 4-8）。虽然这些记录使人联想到图 4-6 中具有多个关闭状态的通道的那些情况，但是在这种场合中有一个附加的**阻滞**（blocked）状态，它代表了通道和 TTX 的结合，而不是通道蛋白本身的各个稳定的关闭或失活的构象（图 4-8）。

离子通道蛋白的分子结构

到现在为止我们已经讨论了测定离子单通道功能活动的方法，以及由这种测定所推断的通道的某些性质。现在让我们考虑离子通道作为蛋白质分子，因为它的氨基酸序列已经从分子克隆技术得到了解。近年来，电生理学和分子生物学方法的结合，对离子通道的结构和功能提供了崭新的见解。作为这种方法结合的例子，我们在此将再一次集中讨论电压依赖性钠通道。其他的电压依赖性离子通道的分子结构，以及配体门控离子通道的分子结构，即门控取决于神经递质或其他小分子与通道蛋白的结合的这种通道，将在随后的一些章节中进行研讨。

表 4-1　与钠通道结合及改变其性质的一些试剂

试剂	作用
河豚毒素（TTX）	
旋内藻毒素（saxitoxin）（STX）	从外侧阻断通道
μ-锥形蜗牛毒素（μ-conotoxins）	
箭毒蛙毒素（batrachotoxin）	
乌头碱（Aconitine）	激活通道的生物碱神经毒素
木藜芦毒素（grayanotoxin）	
α-蝎毒素（α-scorpion toxins）	减慢失活的速率
海葵毒素（sea anemonetoxins）	
β-蝎毒素（β-scorpion toxins）	使电压依赖性失活移到更负的电位
局部麻醉药（local anesthetics）	主要是从内侧阻断通道

钠通道的纯化　　科学家首先了解其生物化学结构的第一个电压依赖性离子通道，钠通道是轴突传导的负重者，即钠通道。这在很大程度上是因为有相当大量与钠通道蛋

1) Puffer：鲀或称河豚。以在受到干扰后能充气或充水发生鼓胀如球而闻名。主要分布于世界暖水及温带海区，但有些也见于半咸水或淡水。皮肤坚韧常有小刺。河豚脏器中有河豚毒碱，是剧毒物质。虽然这种有毒物质可以致死，但鲀有时供食用。在日本，鲀必须经过细心清洗，由经过特殊训练的厨师烹作。——译者注

2) fugu：东方鲀：体内含有类似于箭毒的热稳定毒素的任何一种鲀科鱼类。——译者注

白特异性相互作用的药理学试剂（表 4-1）。这些药理学试剂包括**河豚毒素**（tetrodoxin）（参阅图 4-8），以及由**海洋双鞭甲藻**（marine dinoflagellata）提取出的有关毒素，**旋肉藻毒素**（saxitoxin，STX），当施加这些毒素到膜的外侧时便可阻断这种通道。许多生物化学家以及生理学家都已经使用了此种试剂。应用这些专一性的毒素标记钠通道蛋白，在 1980 年代初期若干研究组已能够从骨骼肌、大鼠脑，以及电鳗（electric eel）电器官的膜中能够萃取和纯化此通道。电鳗电器官是钠通道特别丰富的来源，电鳗鱼利用这种通道产生足够的电流将被其捕食的动物击晕。在所有这些情况下，被纯化的是分子量很大的糖蛋白（约 260 kDa），名之为 α-亚单位。此外，在大鼠脑中发现与 α-亚单位同时纯化的还有两个较小的蛋白质，名之为 β_1（39 kDa）和 β_2（33 kDa）亚单位。

以序列同源性克隆　现在我们将暂时离开主题来讨论分子生物学中用以测定蛋白质，如钠通道的全长氨基酸序列的某些标准方法。应用得到的纯化蛋白质，便可以采用蛋白质化学的常规技术来鉴定蛋白质短片段的氨基酸序列。然后应用这种序列资料可以获得编码蛋白质的 DNA 克隆（图 4-9）。首先从表达该蛋白质的组织纯化信使 RNA，并以此作为模板，通过一种**反转录酶**（reverse transcriptase）以合成与信使 RNA 模板**互补**（complementary）的 DNA（cDNA）。结果得出的 cDNA **文库**（library）是 DNA 序列的集合，它代表存在于所用组织中信使 RNA 的种类。

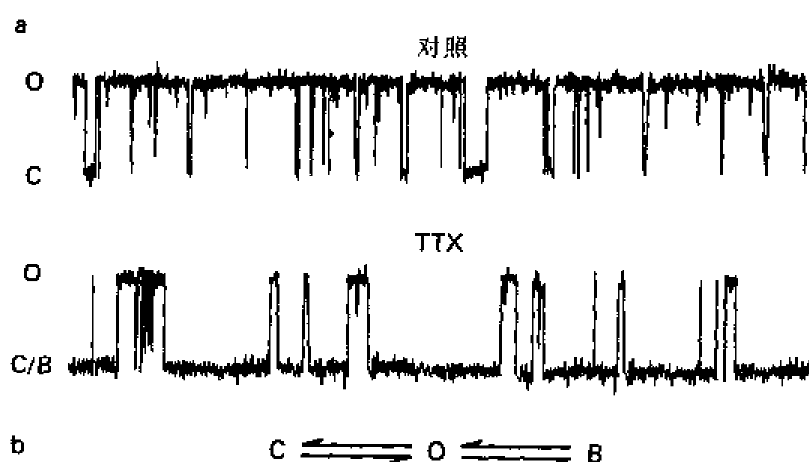


图 4-8　由 TTX 阻断的钠通道。a：对照曲线表明钠通道在大多数时间是开放的（O），而不表现失活。注意通道偶而有短暂的关闭（C）。红色曲线表明在纳摩尔浓度 TTX 存在下的同一通道显示长时间的非导通状态，在此期间 TTX 与通道结合阻塞了小孔。但要注意当通道未被阻断时仍能发生短暂的关闭。b：说明在 TTX 存在条件下所观察到门控的动力学模式图。开放的通道可以进入阻断状态（B），只有当 TTX 排出通道时，通道才可以从阻断状态恢复。

其次的任务是，要从这个 cDNA 分子的大量集合中找出一个对感兴趣的蛋白质进行编码的 cDNA，此时从纯化的蛋白质中得出有限的氨基酸信息发挥了作用。在化学上合成一小段其核苷酸序列编码已确定的氨基酸序列的 DNA 片段（**寡核苷酸**，oligonucleotides）是可能的。然后应用这些寡核苷酸以若干不同的方式从 cDNA 文库中纯化对

感兴趣的蛋白质的全部或部分进行编码的特异 cDNA 成分。其中的一种方法是通过互补核苷酸序列的**杂交作用**（hybridization）。在合适的条件下，能够合成编码已知氨基酸序列的寡核苷酸，它可与 cDNA 文库内的互补序列紧密地结合，也即是杂交。如果寡核苷酸已经预先用放射性或荧光标签进行标记的话，那么标签就可以被用于鉴别和纯化编码蛋白质的 cDNA（图 4-9）。然后应用标准方法可以获得 cDNA 的核苷酸序列，并由此推论出完整的氨基酸序列。这种程序用于获得完整的氨基酸序列比应用蛋白质化学技术要快得多和简单地多。

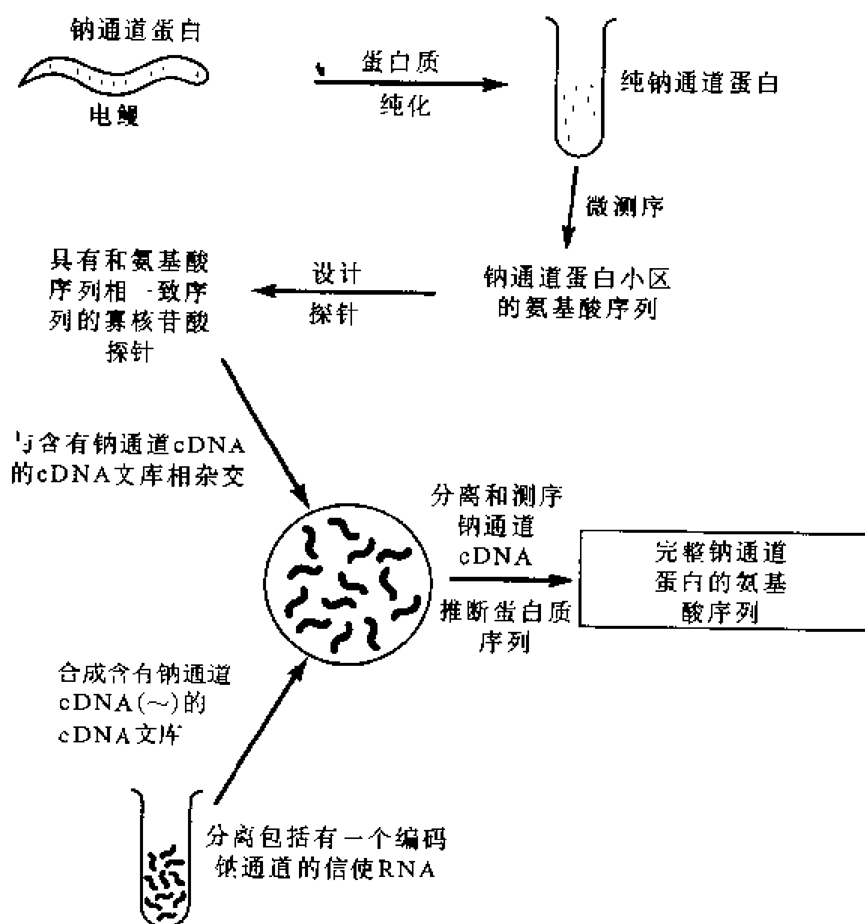


图 4-9 通过蛋白质纯化进行克隆。细节见正文。

最近通过使用**聚合酶链式反应**（polymerase chain reaction，PCR）产生大量的 cDNA，使上述方法甚至更加容易。两个单独的寡核苷酸（PCR 的**引物**[1]），每一个在序列上都与蛋白质氨基酸序列的不同部分相一致，可以和 cDNA 文库中的互补序列相杂交（PCR 的**模板**[2]）。然后一个称之为 DNA **聚合酶**[3]的酶用于填充两个核苷酸之间的核苷

1) primer，引物或引子：具有一个自由的 3′-OH 基团的核苷酸顺序，为 DNA 聚合酶的起始合成所需，一个短的引物序列的碱基对应一个长的 DNA 链的特定部位，并能从该点起始发生聚合反应。——译者注

2) template，模板：指 DNA 或 RNA（mRNA）的一股，因为新合成的 DNA 或 RNA 股是由它规定并由之互补的。——译者注

3) polymerase，聚合酶：在存有一条多聚核苷酸模板的情况下，通过互补产生多聚核苷酸序列的酶，DNA 聚合酶需要一段引物才能产生聚合作用，RNA 聚合酶则不需要引物。——译者注

酸序列，此核苷酸序列是和两条寡核苷酸之间的模板的序列相一致的。因此，复制形成了结合两个引物的序列之间的那段模板序列的拷贝。通过进行多个复制循环，cDNA 模板内的这段序列可以被扩增许多倍。然后将扩增的 cDNA 用于杂交实验以从文库分离较长的 cDNA 克隆，直至最后获得编码整个通道蛋白的 cDNA。

钠通道的结构　通过上述杂交克隆的方法可以分离出对电鳗钠通道 α-亚单位完整的氨基酸序列进行编码的 cDNA。从 cDNA 序列预测的此蛋白质含有大约 2000 个氨基酸，占总分子量 260 kDa 中的 208 kDa，很显然其余部分是连于通道蛋白的糖类形成的。

这庞大的一长串 2000 个氨基酸能告诉我们有关通道结构的什么情况呢？幸运地是存在着从氨基酸序列推测蛋白质结构的一般性原则。这些原则可以为蛋白质的哪一个区域位于脂质膜范围之内提供线索。其中较为重要的一个原则是一串 23 个左右的疏水性氨基酸可以跨越正常的细胞膜，并很可能构成氨基酸的 α-螺旋的形状。蛋白质中的这样一串疏水氨基酸很容易从**疏水性图**（hydrophobicity plot）中挑选出来。每一个氨基酸都被赋予一个**疏水值**（hydrophobicity value），这个数值反映了它与水交互作用的能力。具有非极性侧链的氨基酸很少与水相互作用，具有很强的疏水性，被赋予很高的正值。相反，极性氨基酸被赋予负值。然后计算出蛋白质序列中的每一个氨基酸的两侧数个氨基酸的疏水值的连续平均值，并绘出对应蛋白链位置的函数曲线。钠通道 α-亚单位的疏水性图如图 4-10a 所示。可以发现 24 个可能的氨基酸的跨膜区。

当认识到此序列含有 4 个内部结构域，其中每一个都与另一个有很大的相似性时，

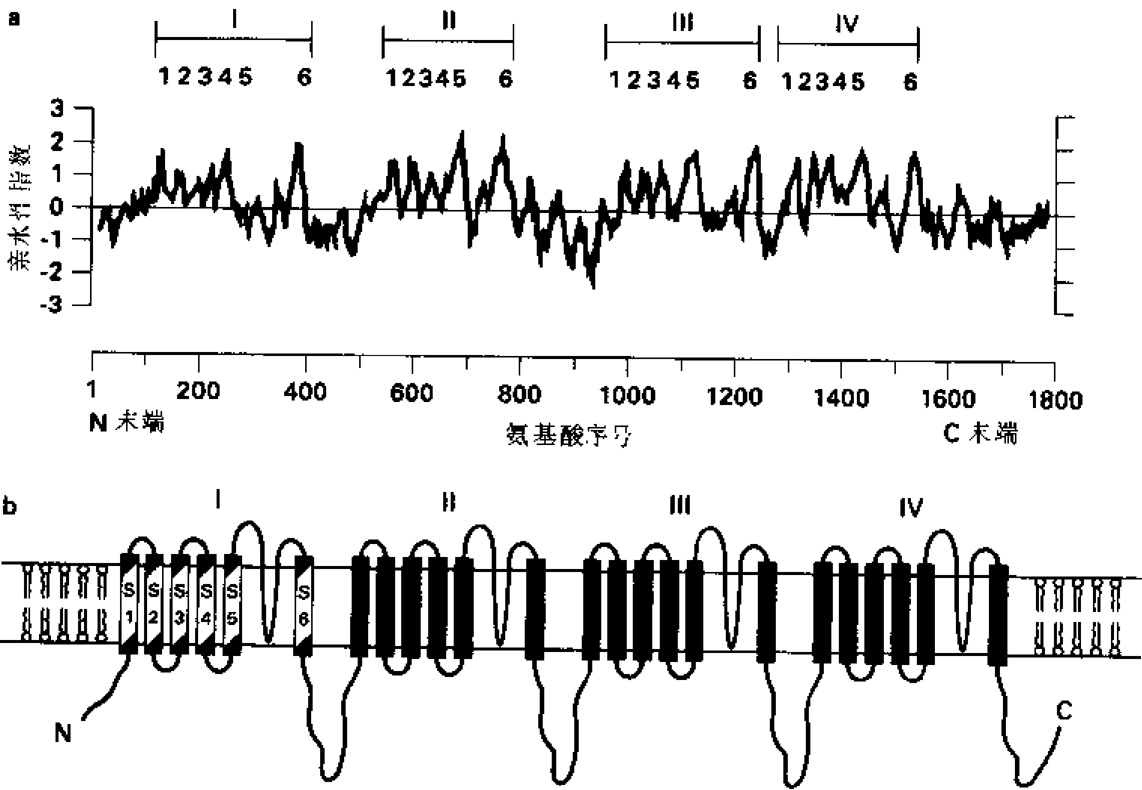


图 4-10　钠通道的 α-亚单位。a：钠通道 α-亚单位的疏水性曲线图。b：胞浆膜中钠通道 α-亚单位的排列模型。在 4 个同源结构域（Ⅰ—Ⅳ）中，每个结构域都有 6 个跨膜区（S1—S6）。

实际上，这就极大地简化了钠通道结构的复杂性。在图 4-10 中用Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ和Ⅳ表示。在每一个同源区域内存在被标记为 S1—S6 的 6 个可能的跨膜区。应用这些信息可以构筑蛋白质不同部分跨胞浆膜分布的模型（图 4-10b）。但是应当强调，在对通道蛋白本身能够直接进行结构测定以前，这种结构只不过还是一个假设的模型。

异源表达系统的应用

α-亚单位是否能够单独地构成一个完整功能的钠通道，或其他的蛋白质，例如与 α-亚单位共同纯化的 β-亚单位对于传导、门控和选择性是否是必需的？解决这个问题的一个途径是要获得纯化的 α-亚单位蛋白，并将其重组到合成的脂质膜中，在第 10 章中对乙酰胆碱受体/通道将更详细地描述这种方法。一个更为普遍的问题是，人们怎样知道特定克隆的 cDNA 确实编码一个离子通道呢？可以对含有很少内源性离子通道的细胞的离子通道的**异源表达**（heterologous）来解决这两个问题。**南非爪蟾**（*Xenopus laevis*）的卵母细胞和组织培养的某些哺乳动物细胞对解决这一问题是特别有用的。

爪蟾卵母细胞　　对于电生理学家来说，爪蟾卵母细胞是一个很不活泼的细胞，这个细胞几乎没有赋予神经元和其他可兴奋细胞独特电学特征的令人感兴趣的离子通道。另一方面，卵母细胞很大，用常规技术很容易测量它们的电学性质。在 20 世纪 70 年代初期业已发现，当从其他类型细胞获得的编码蛋白质的信使 RNA 被注射到卵母细胞时，RNA 会被如实地翻译为蛋白质。此外卵母细胞还可以对外来蛋白进行许多正常翻译后的修饰，包括加入糖或磷酸基团，并能将蛋白质插入到细胞的相应部分中。对离子通道的处理也是如此。当把从可兴奋组织制备的信使 RNA 注入到卵母细胞时，等待若干天以便产生蛋白质的合成。新的离子通道将会出现在卵母细胞的细胞膜中。表达的离子通道的精确形式则取决于 RNA 的来源。

通过注入仅只编码某一通道的 cDNA 克隆所获得的信使 RNA，在卵母细胞中也可能单独地表达出这种离子通道。对于钠通道来说，图 4-11 中就表明了这种情况。当将只对大鼠脑钠通道的 α-亚单位编码的纯化信使 RNA 注入到卵母细胞后，就表达出功能性的钠通道（图 4-11）。这些结果，连同人工脂质膜重组的实验，都指出了 α-亚单位是足以产生功能性的通道的。但是从纯化 α-亚单位的信使 RNA 所表达的钠通道的失活速率与应用大鼠脑全部的信使 RNA 所观察到的钠通道失活速率是有差异的（图 4-11）。很显然这是因为当应用全部的脑信使 RNA 时也有 β-亚单位的表达，因而就修饰了所表达的钠通道的性质。

哺乳动物细胞表达系统　　最近，某些表达很少内源性离子通道的哺乳动物细胞系，已被应用于离子通道的异源表达。在容许很多细胞能够摄取 cDNA 的条件下，将组织培养皿中的细胞与编码离子通道的 cDNA 进行混合（图 4-12a）。这样 cDNA 的**转染**（transfection）就不需要转录信使 RNA 了，因为转录的信使 RNA 在体外很易破坏，而且操作困难。此外，哺乳动物的转染可能导致离子通道高水平的表达，常常高得足以进行生化分析。当然可以应用常规的膜片钳技术来鉴定所表达通道的功能性质（图 4-12b）。

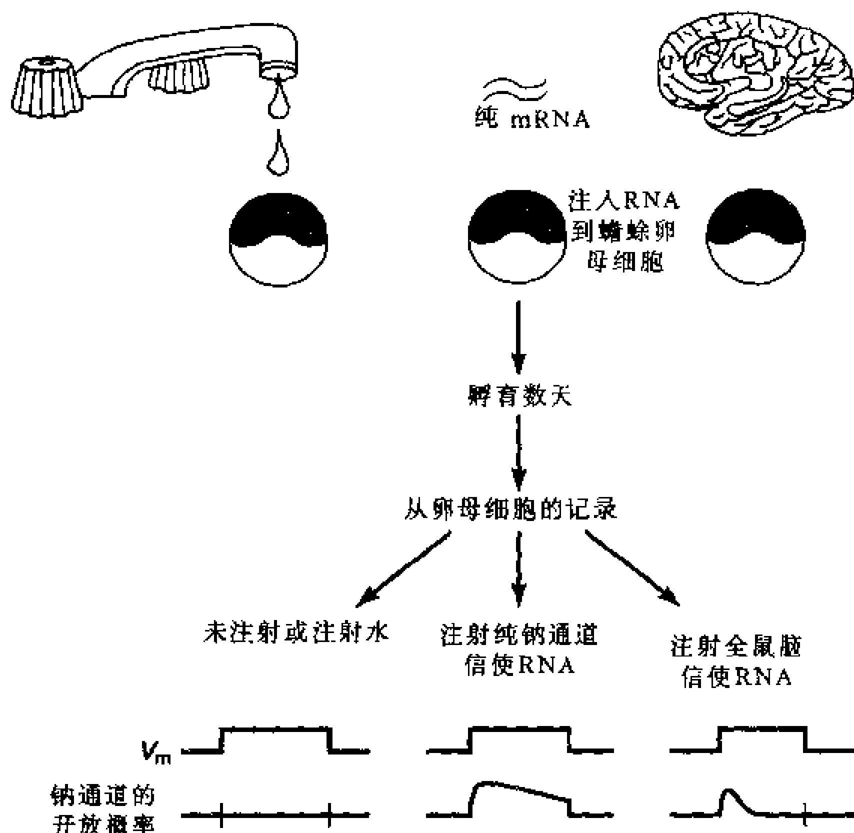


图 4-11 离子通道在爪蟾卵母细胞（*Xenopus oocytes*）中的表达。在对照的卵母细胞中（左侧），膜中几乎没有通道对去极化电压脉冲作出应答。相反，注射编码钠通道 α-亚单位的信使 RNA 导致钠通道的表达，通过去极化作用能够增加钠通道开放的概率（P_o）（中间）。右侧为注射大鼠全脑 mRNA 后钠通道的表达。

突变通道的表达　离子通道异源表达也可用来系统地研究通道蛋白中结构与功能之间的关系。应用许多实验室中常规采用的分子生物学技术可以制备出 cDNA 片段，并在此片段的特定部位上修饰或突变编码此蛋白的序列，然后此已突变的 cDNA 既可用于转染哺乳动物细胞，也可产生上述能够注射到爪蟾卵母细胞内的信使 RNA。这种**定点突变**（site-directed mutagenesis）实验可以用于探求特定氨基酸或结构特征在此蛋白质的功能中，究竟起什么作用。举例来说，在钠通道的第Ⅲ和Ⅳ同源结构域之间的细胞内环路的突变可以引起通道失活速率的改变（图 4-12b）。在第 6 章中我们将进一步讨论这些变化。在贯穿整个本书中，对于离子通道以及其他重要的神经元蛋白质，我们将提供有关这种方法应用的许多其他的例子。

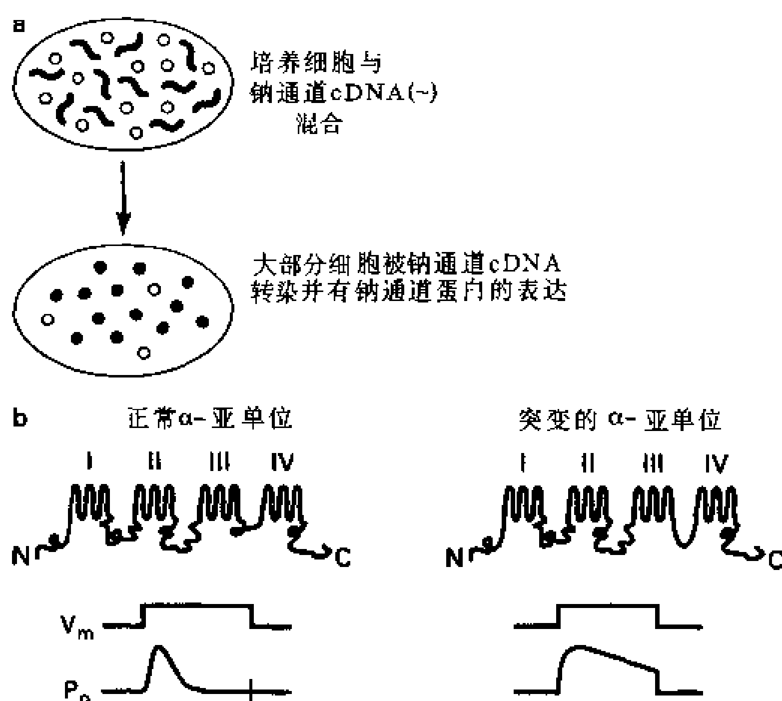


图 4-12 转染和定点突变。a：组织培养皿中的许多细胞可以摄取加入培养液中的 cDNA，并表达出它编码的蛋白质。b：定点突变提供了对其功能性起重要作用的通道蛋白序列的各个部分的信息。

小结

神经元（以及其他类型细胞）中的电活动是离子通过称之为离子通道的特化膜蛋白跨胞浆膜运动产生的。有效地利用那些精湛敏感的技术，可以测量流经离子单通道的电流。这些技术容许详细地鉴定离子通道各种基本的性质，包括对特定离子的选择性，它们的药理学，以及通过膜电压和其他因素调节通道活动的方式。

应用分子生物学的方法已经获得了离子通道蛋白。克隆出了编码许多离子通道的cDNA；检查通道氨基酸的序列并结合定点突变实验，已经鉴定出与特定通道功能相关联的结构特征。在下述两章里我们将叙述关于单通道测量和分子克隆方法强有力的结合对离子通道的一些新的认识。

5

离子通道、膜的离子电流和动作电位

我们对离子通道的大部分认识，其中包括对不同类型的**选择性和门控性**（selectivity and gating）通道的理解，在单通道记录法发明以前已经获得了。这种认识的深入发展，是因为近50年来人们能够在某些细胞上记录到**宏观膜电流**（macroscopic membrane current）。宏观膜电流是指同时流过细胞膜上所有活动性离子通道的复合电流。在讨论如何进行这种电流测定之前，让我们复习一下**平衡电位**（equilibrium potential）这个基本的理化概念，这是我们理解生物膜的所有电现象的基础。然后我们再探讨膜离子电流的多种成分是如何产生神经元电活动的复杂模式的。

离子平衡和 Nernst 电位

离子跨浆膜流动的速率取决于：

（1）**浓度梯度**（concentration gradient），胞浆膜两侧离子的浓度差；

（2）**电位差**（voltage difference），跨过胞浆膜的电位差，以及

（3）**电导**（conductance），离子通道的电导，即离子通过跨浆膜的离子通道移动的难易程度。

最简单的例子　在图5-1的例子中，被胞浆膜分隔的两种水溶液分别代表一个细胞的内侧和外侧，每侧溶液只含有普通的离子 X^+ 和 Y^-。这种假定膜含有对 X^+ 有选择性通透的离子通道，而没有对 Y^- 有选择性的通道，这样只有 X^+ 能跨膜移动。让我们再假设膜一侧（细胞内侧）X^+ 和 Y^- 的浓度是膜的另一侧（细胞外侧）的10倍，即 $[X^+]_i=10\ [X^+]_o$ 和 $[Y^-]_i=10\ [Y^-]_o$。此外还假设**初始**（initially）不存在跨膜电位差（即 $V_m=0$）。而且膜两侧没有净电荷，因为 X^+ 和 Y^- 所带的电荷相互抵消了。在此条件满足后的最初瞬间，X^+ 将出现通过其选择性通透的离子通道顺浓度差由细胞内向细胞外扩散的趋势，这当然会引起跨膜电荷的重新分布；膜内失去一些正电荷而膜外获得了一些正电荷，这样就会出现一个膜内电位较膜外为负的梯度，该电位梯度将减缓 X^+ 的扩散，因为正离子不想离开负电荷区。随着时间的推移，X^+ 流动（跨膜离子电流）变得越来越慢，直到最后电位梯度增大到足以抵抗浓度梯度的作用。至此不再出现 X^+ 的任何跨膜净流动，因此电位也不再改变（图5-1）。需要注意的重要一点是相对于细胞内外的离子总数而言、引起电位差的跨膜流动的离子数是很少的，也就是说，跨膜电位差的形成不会使离子浓度梯度发生显著的变化。

恰好对抗任何特定的离子 X 跨膜流动所需的电位差称为该离子的**平衡电位**（equilibrium potential, E_x）（图 5-1）。很明显 E_x 完全取决于跨膜浓度差。在 19 世纪末叶到来之际，物理化学家 Walther Nernst 用以他名字命名的方程式描述了 E_x 与 $[X^+]_i$ 和 $[X^+]_o$ 的相互关系：

$$E_x = \frac{RT}{zF}\log_e \frac{[X^+]_o}{[X^+]_i}$$

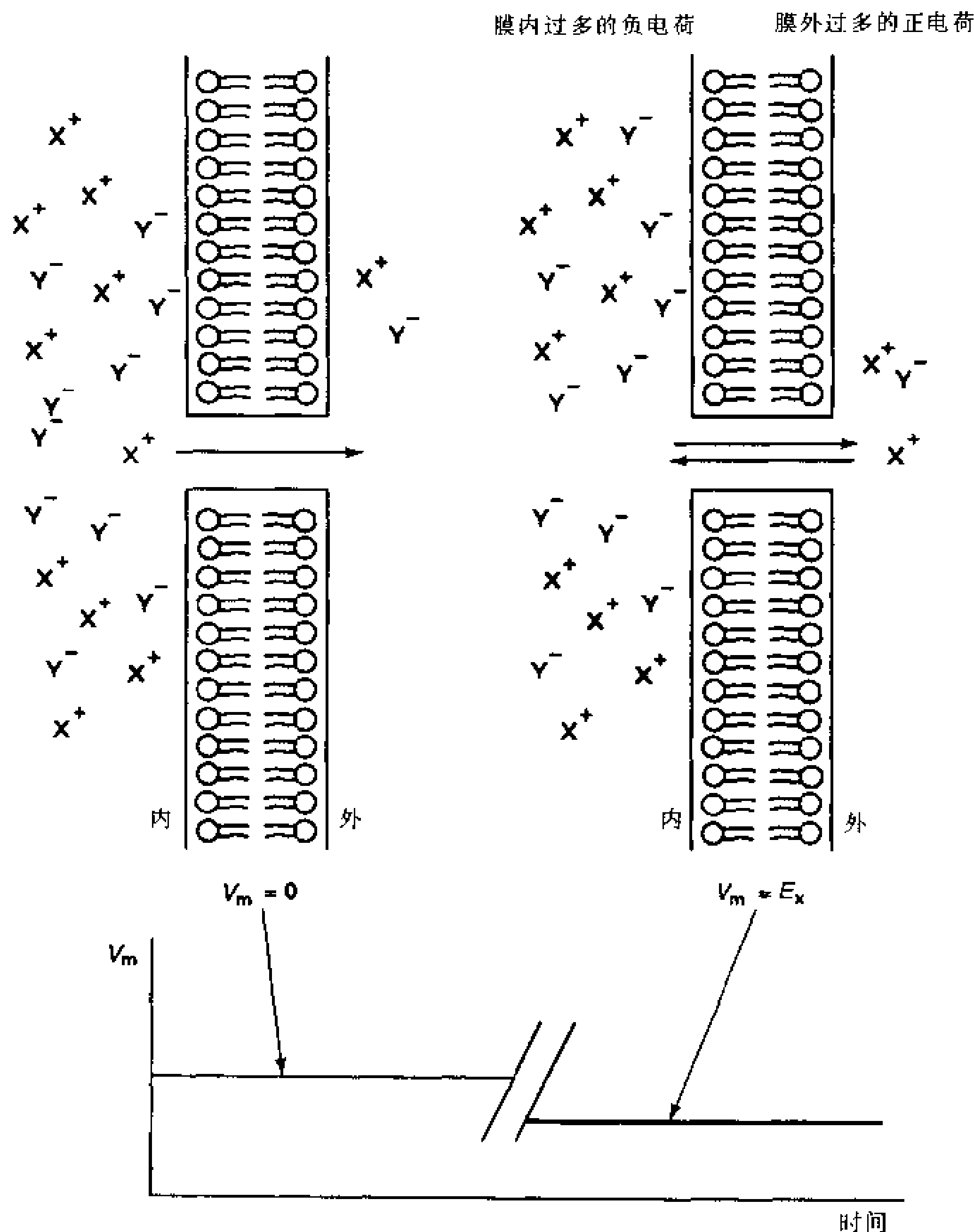


图 5-1 Nernst 平衡电位。假定膜含有对单电荷离子 X^+ 选择性通透的通道，X^+ 在膜两侧呈不对称性分布，带相反电荷的离子 Y^- 则不能跨膜流动。X^+ 将从高浓度侧向低浓度侧进行跨膜流动，直到积聚的电荷足以抵消净离子流动为止。X^+ 开始流动之前跨膜电压（V_m）为零，达到平衡时，$V_m = E_x$。

这里 R 为气体常数，T 是用 Kelvin 度表示的温度，Z 是离子所带的电荷[1]，F 是法拉第常数（用库仑表示的一克分子的单价离子所携带的电荷量）。在室温（大约 20℃）情况下的单价离子 Nernst 公式可简化为：

$$E_x = 58 \log_{10}\frac{[X^+]_o}{[X^+]_i}$$

对我们在此处正在讨论的内外侧浓度差为 10 倍的浓度梯度来说，显然 E_x 应为 −58 mV；换句话说，细胞内比细胞外负 58 mV 时，电压梯度和浓度梯度将达到平衡，再也没有离子的跨膜净流动。只要 X^+ 是惟一能够跨膜流动的离子，那么跨膜电压 V_m 将等于 E_x。浓度梯度的变化将必然导致 E_x 的改变和相应的 V_m 改变。

真正的膜　现在让我们回到现实的世界来考虑，当存在具有不同跨膜浓度梯度的若干种离子，和对这些具有不同离子选择性通透的若干种离子通道共存时将会发生的现象。我们将举的例子是**海洋软体动物**（marine mollusc）**枪乌贼**（*Loligo*）的巨轴突的膜，它在阐明动作电位的产生及传播的理化机制上有着重大价值。枪乌贼巨轴突的细胞外介质含有的离子在浓度上与海水中的这些离子非常相似，这样下述几种跨膜离子梯度的关系是很接近实际的：

(1) $[K^+]_i = 20\ [K^+]_o$

(2) $[Na^+]_o = 10\ [Na^+]_i$

(3) $[Cl^-]_o = [Cl^-]_i$（严格地说这并不正确，因为氯离子浓度在细胞外略高于细胞内；但是细胞内有机大分子物质所带的负电荷平衡了细胞外过剩的氯离子。）

当然在海水和细胞内均含有其他的离子，但这些离子不是浓度很低就是不存在允许它们跨膜流动的离子通道，因此，它们对跨膜离子流几乎不起作用，因而我们就可以把讨论限制在主要的电荷载体，即钾、钠和氯。

轴突膜也含有对钠、钾和氯选择性通透的离子通道，并且对于静息状态下的**枪乌贼轴突**（squid axon）（以及大部分其他轴突）也存在下列关系：

(4) 膜对氯的通透性基本上为 0（即 $P_{Cl}=0$）。换言之氯通道**总是关闭**（always closed）的。

(5) 膜对钠的通透性（P_{Na}）非常低，亦即钠通道**多半是关闭**（mostly closed）的。

(6) 膜对钾的通透性（P_K）相对较高，亦即钾通道是**经常开放**（often open）的。

给定这些相互关系后，我们怎样才能测定膜电位呢？当只有单一离子 X^+ 能流动时 Nernst 方程才可用以描述膜电位，因为在这些条件下，$V_m = E_x$。差不多 50 年前，David Goldman 以及 Alan Hodgkin 和 Bernard Katz 根据几种不同可通透离子的浓度梯度和通透特性各自推导出下面方程用以描述膜电位：

$$V_m = \frac{RT}{zF}\log_e\frac{K_o + [P_{Na}/P_K]\ Na_o + [P_{Cl}/P_K]\ Cl_i}{K_i + [P_{Na}/P_K]\ Na_i + [P_{Cl}/P_K]\ Cl_o}$$

当氯通道和钠通道关闭（即 P_{Cl}和 P_{Na}为零），膜只对钾通透时，Goldman-Hodgkin-Katz 方程中，定义通透性的分子和分母均为零。在这种条件下，方程可简化为 Nernst 方程，

1）T 为绝对温度；z 即离子的价数。——译者注

膜电位则仅由单一可通透离子，即钾离子决定。当实验测定枪乌贼轴突（和许多其他神经细胞）V_m时，通常可以发现 V_m 非常接近钾的平衡电位，但其负值稍小一些。例如，在枪乌贼轴突，V_m 通常大约是 −70 mV，而通过 Nernst 方程根据钾浓度梯度计算出的 E_K 是 −75 mV。这表明测得的 V_m 通常比 E_K 负值稍小，这一事实正好说明静息时钠的通透性尽管很小却不等于零。就是说，在静息状态钠通道可能是偶尔开放的，虽然比钾通道的开放要少得多。因此，至少说钠也是很有限度地参与了静息膜电位的形成。

显然，静息电位正好大到足以平衡由具有不同浓度梯度和膜通透性的多种可通透离子形成的离子流动。在这种电压条件下，净电荷的移动是零。重要的是要注意到当仅有单一离子能够跨膜流动的情况下，系统达到**平衡**（equilibrium）时不再有该离子的净流动（图 5-1）。然而，正如枪乌贼轴突和其他实际的细胞一样，V_m 并不正好等于任何一种可通透离子的平衡电位。没有任何单一离子总是处于平衡状态，每种离子都将顺着其自身的浓度梯度持续地流动。因此，每种离子都将携带一定的电流（I）。这种情况下膜是处于一种**稳态**（steady state）而非平衡。由于电压不变，因而必定为零的总膜电流（I_m）是各种离子所携带电流的总和。换句话说，I_m 可用下式表示：

$$I_m = I_1 + I_2 + I_3 + \cdots\cdots + I_n = 0$$

其中 I_1，I_2 等等是由几种不同离子所携带的电流。可见电流总和等于零的话，不同电流必定具有不同的符号（流向）。按照习惯，跨膜流入细胞内的正离子电流（内向电流）被认为是负性的，而外流的正离子流（外向电流）则是正性的。对负离子的流动则相反。

如果总的 I_m 为零，而只有钠和钾能够流动的话，则由钠和钾所携带的电流（分别为 I_{Na}和 I_K）必定数值相等而方向相反。就是 $I_{Na} = -I_K$。当 P_K 远大于 P_{Na}（即钾通道的开放远多于钠通道的开放）时，会是怎么样呢？答案就是对于任何给定离子的 I 不仅仅取决于其通道是开放还是关闭。根据上一章简要介绍过的欧姆（Ohm）定律我们知道，两点之间的电流取决于这两点之间的电位差（V）和电流阻力（R）：$I = V/R$，与离子 X^+ 跨膜的流动相关的电位差是（$V_m - E_x$）并称之为**驱动力**（driving force）。我们可以认为 R 等同于该离子通透性的**倒数**（inverse）（从直觉上我们可以看到，通透性作为衡量离子流动难易的一个指标，是和离子流动的阻抗呈反比的）。事实上，R 就是**电导**（electrical conductance）（G）的倒数，而 G 则是一种类似于但不完全等同于通透性的另一个衡量离子流动难易程度的指标。然而，电导和通透性两个术语的应用，实际上目的都是为了反映离子通道开放的程度，两者可以互换使用。因此，为了描述任一离子所携带的电流，我们可以将欧姆定律写成如下式：

$$I_x = (V_m - E_x)\ G_x$$

在静息状态下，既然 $I_{Na} = -I_K$，必定得出：

$$(V_m - E_{Na})\ G_{Na} = -\ (V_m - E_K)\ G_K$$

现在要记住的是 V_m 很接近于 E_K 时，因此钾离子流的驱动力（$V_m - E_K$）就非常小。相反地，尽管钠电导很低，但是钠离子流的驱动力（$V_m - E_{Na}$）却足够大，以致产生的内向钠电流等于外向钾电流。某一离子所携带的电流取决于该离子的膜电导和驱动力，这是我们在以后将要论及的非常重要的一点。

现在让我们假设 G_{Na}突然变得远高于 G_K，并维持在这一高水平状态（图 5-2a）。最初钠离子将顺着浓度梯度大量流入细胞，而钠离子所携带的电流（I_{Na}）将增强（图 5-2b）。这时出现一个净电流，系统不再处于稳态。当带有正电荷的钠离子在细胞内累积起来时，膜便去极化（图 5-2c）。这种去极化使膜电位 V_m 不断接近 E_{Na}，钠的驱动力不断减弱，因此 I_{Na}将又开始减弱。与此同时 V_m 和 E_K 相距越来越远，结果由于钾的驱动力的加强，使 I_K 增强。钠与钾电流的这些变化共同减慢了 V_m 的变化速率（图 5-2c）。最终，在另一个不同的电压下达到新的稳态。I_K 和 I_{Na}再一次数值相等而方向相反，但都比以前大得多，这反映了总的膜电导的增大。

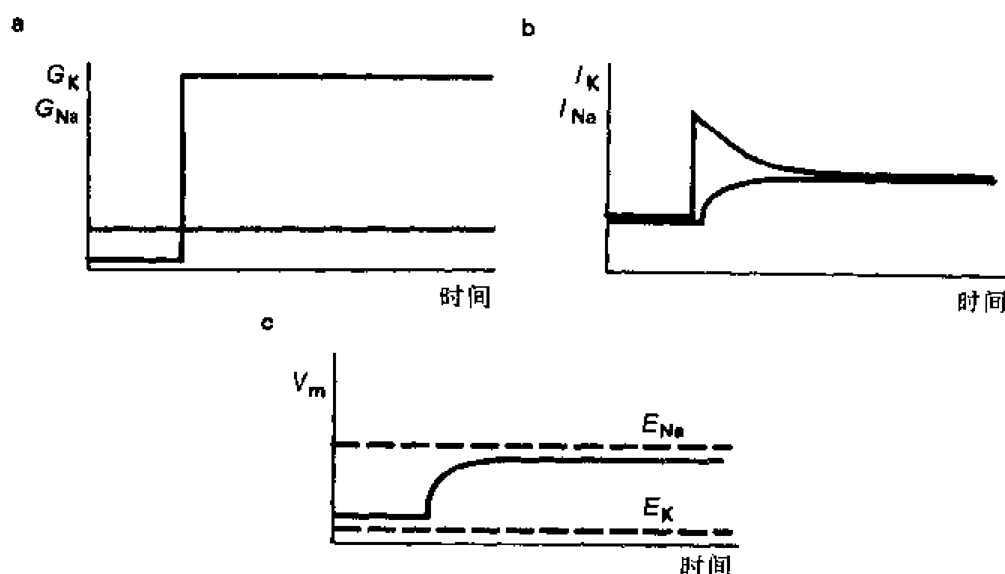


图 5-2 电导变化导致电压变化。钠电导的改变（a）对由钠和钾所携带的膜电流（b）及膜电压（c）的影响。

基于上述讨论，我们能够直观地理解到 Goldman-Hodgkin-Katz 方程式所告诉我们的数学含义。当离子浓度保持恒定时，V_m 取决于 G_K 和 G_{Na}的相对值。图 5-3 描述了当 G_K 固定的情况下，使 G_{Na}由比 G_K 小很多，变化到比 G_K 大很多时 V_m 的变化。这两个极端是 Goldman-Hodgkin-Katz 方程式的特例，此处它便简化成 Nernst 方程式，而 V_m 等于 E_K 或 E_{Na}；电导比值的中间值决定 V_m 的中间值。

由于 V_m 仅是离子电导和浓度梯度的函数，理论上这两个参数的任一或两个同时变化可用以改变 V_m。然而，浓度梯度变化幅度大到足以引起 V_m 显著的变化往往是非常缓慢的，这还会破坏许多其他的细胞功能。另一方面，胞浆膜中离子通道的开放和关闭过程是通过各种机制进行非常迅速的调制。在整个书中我们将看到神经细胞惯常通过选择性改变一个或另一个离子通道活性的方法来改变 V_m，并迅速产生有意义的电信号。

离子选择性的再讨论 现在让我们回到通道的离子选择性问题上来。本书第四章在介绍 Nernst 平衡电位概念的内容中，曾提到过这一问题。单通道电流的**反转电位**（reversal potential）为通道的离子选择性提供了一个重要的线索；处于这种反转电位状态下，即使通道开放也没有电流经过通道流动。回顾图 4-3 中所说明的通道，这种情况

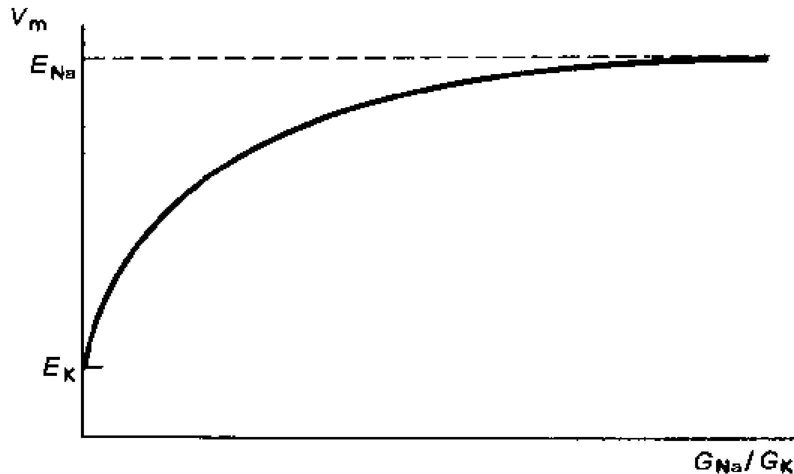


图 5-3 膜电位取决于钠和钾的膜电导比值。当钠电导很低时，膜电位接近于钾平衡电位（E_K）；相反，当钠电导远高于钾电导时，膜电位接近于钠平衡电位（E_{Na}）。

就发生在 -75 mV。在此电位状态下，通道仍然可以开放和关闭，但在开放期间不发生离子的净流动。根据我们对 Nernst 平衡电位的讨论，可以明显地看出，某一通道电流的反转电位等于通过该通道的离子平衡电位。因此可推测通过图 4-3 中通道的电流很可能是钾离子携带的。因为 E_K 很接近 -75 mV，所以在此电位状态下，即使当此通道开放时也不会有钾的净流动。可见这些对单通道的种种考虑同样适用于对总膜电流的考虑，总膜电流不过是大量单通道综合活动的结果。

正如总膜电流的情况一样，Nernst 方程式为单通道的离子选择性提供了一种简易的测试。例如，测试钾通道的离子选择性时，可使细胞外液中钾浓度（存在膜片钳微电极内）按 10 的因数增加，这样将会使反转电位由 -58 mV 向更正的电位改变。然而，改变钾的浓度，不会改变其他离子选择性通透的通道的反转电位。例如钠通道，如果钠浓度没有被改变的话，那么其反转电位就不会改变。但某些通道可以允许一种以上的离子跨膜流动。为了测定钾通道对钾选择性通透超过对其他离子通透的程度，应当在存在其他潜在可通透离子如钠离子的情况下进行这些测试操作。一个对钾通透远远超过对钠通透的通道，其反转电位总是出现在 E_K，而与膜两侧的钠浓度无关。如果反转电位偏离 E_K 的话，这就说明这种通道不是完全选择性通透钾，而是允许一些钠的流过。

我们可以将这种通道离子流与神经元静息电位时的总膜电流再作比较。由于静息膜主要对钾通透但又不是惟一对钾通透，所以这样在接近 E_K 却不完全等于 E_K 的情况下，这种电流等于零（即其使其符号反转）。这种现象的一种可能的解释是膜存在一类主要通透钾同时少量通透钠的通道，并与总膜电流的形成有关。这类通道确实存在，而被称之为**非选择性阳离子通道**（nonselective cation channel）。但我们知道，神经元中的大部分通道是对一种或另一种离子选择性通透的。高钾和低钠通透性结合共存现象的出现是因为在静息状态下，钾通道有时是开放的（并允许电流通过），而钠通道实际上始终是关闭的。

离子通道群体活动引起的宏观离子电流

现在让我们探讨流经离子通道群体的**微观电流**（microscopic current）是如何组合产生由全细胞记录到的大得多的宏观电流的。轴突电压依赖性钠通道为我们提供了一个很好的例子（图 5-4），这种通道在膜电压发生由负变得较正时迅速开放。当膜片中只存一个通道时（图 5-4a），通道对去极化的反应是，通道开放概率增加，接着因通道失活而再下降（也参阅图 4-7）。当膜片中存在几个钠通道时（图 5-4b，c，），所记录到的电流开始类似于用下述技术记录到的**全细胞钠电流**（whole cell sodium current）（图 5-4d）。换句话说，全细胞钠电流是通过胞浆膜上所有钠通道电流的总和。在全细胞记录中，各个钠通道开放概率的迅速变化（图 4-7a）表现为总钠电流的迅速增加（图 5-4d）。在图

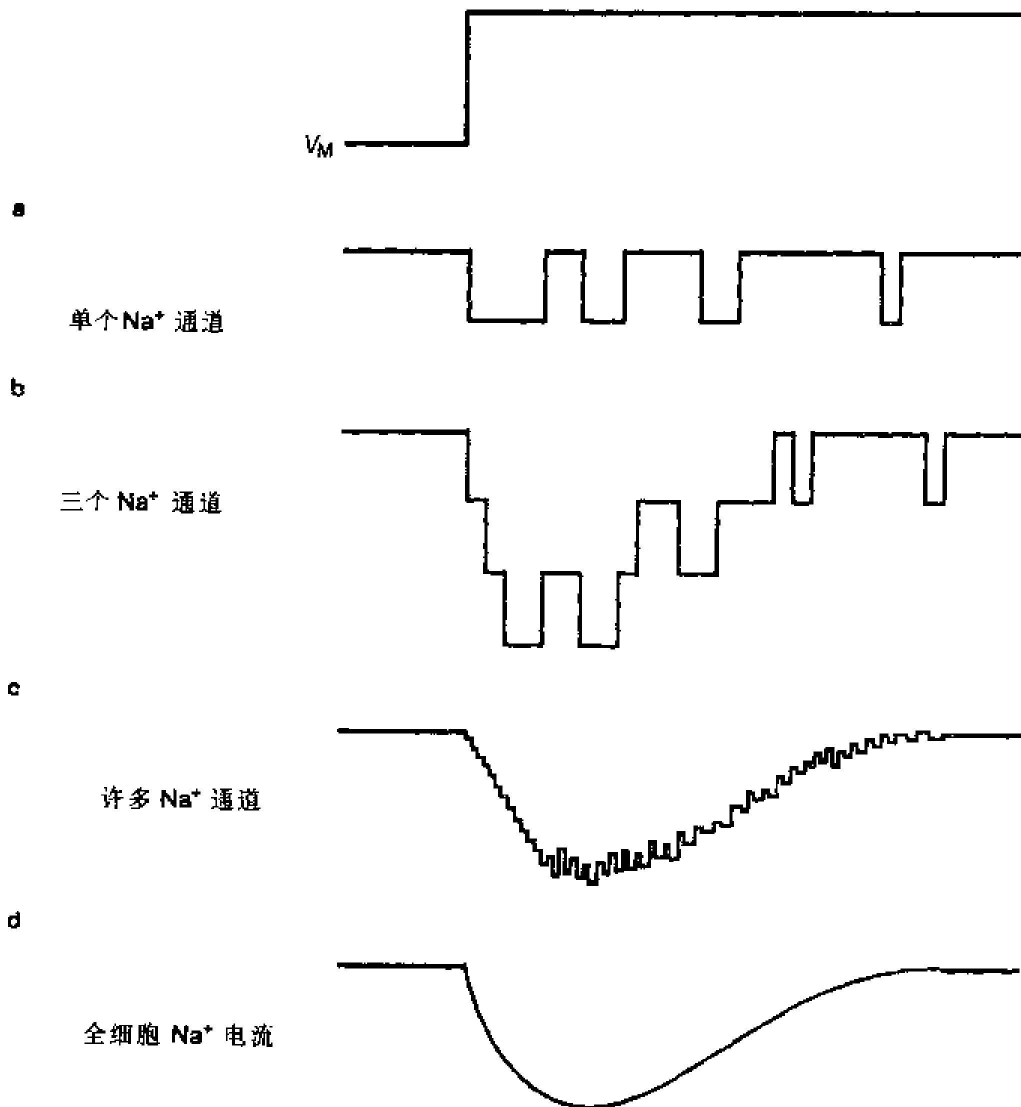


图 5-4 各个离子通道总合活动引起的宏观膜电流。a：在持续去极化电压脉冲期间，单一钠通道开放随后又失活。通过开放的钠通道而流入细胞内的钠所携带的内向电流显示为向下的偏移。b 和 c：膜片中存在更多的通道。d：膜片的电流极其类似于从全细胞记录到的钠电流。

5-4 中，也应注意到即使去极化作用持续存在，但总膜电流返回到零，这是各个离子通道失活的结果（再与图 4-7a 作比较）。这些电流曲线再一次强调了这样一个基本的事实，这就是许多离子通道的活动既具有电压依赖性又具有时间依赖性。

这些论述可通过一个简单而实用的方程式以便用定量的方式来表述。由一种类型离子通道所携带的宏观电流 I 可用下式表示：

$$I = NP_o i$$

此处 N 是膜内存在该类型功能性通道的数量，i 是当单通道开放时通过它的电流，而 P_o 是通道开放的概率。我们知道 i 取决于跨膜电压，并且我们还知道 P_o（有时是 N）可成为电压和时间的函数，并受神经递质和/或细胞内代谢事件的调制。

在解释全细胞宏观电流记录中的一个难题是神经元的膜具有许多不同类型的离子通道，它们对不同离子有选择性，而且其门控作用受到电压和神经递质以不同方式的影响。正如我们在图 5-4 中所显示的那样，选择性地测定全细胞的钠电流确实可能吗？钠（或其他）通道在**低背景细胞类型**（low-background cell types）（见图 4-11 和图 4-12）中异源性表达的一个有利条件，就是被表达的通道一般是胞浆膜中的优势通道，对其进行研究时可不受其他类型通道所干扰。在实际的神经元中，尽管做起来不容易，但通过仔细地选择电压和使用药物阻断其他通道往往可记录到代表单一种类型离子通道开放和关闭的电流。这一问题在我们讨论担负着动作电位和神经元放电模式的离子电流时将会更明了。

动作电位的离子机制

以上所描述的离子通道活动，在神经冲动期间是如何确切地变化呢？首先我们将在动作电位过程中所发生的变化序列作一总结归纳（图 5-5），然后再深入地讨论这种事件顺序的实验证据。

当使轴突去极化达到超过动作电位的阈值时，去极化本身引起大量电压依赖性钠通道开放，这可被看作是 G_{Na}的迅速增加（图 5-5a）。G_{Na}快速上升到一个远远高于 G_K 的水平（如图 5-2 所示），结果内向钠电流增加（图 5-5b），膜进一步去极化，V_m 接近 E_{Na}（图 5-5c）。然而，与图 5-2 中所描述的情况相反，一系列进一步的变化是由于去极化引起的。动作电位达到顶峰时出现：①钠通道失活，因此 G_{Na}迅速下降到静息水平；②G_K 缓慢增加。结果导致曾经瞬间增大的内向 I_{Na}开始下降，I_K 则开始稍微缓慢地增加。当外向 I_K 变得大于内向 I_{Na}时，净电流立即向外流动（超极化），这种净电流开始驱使 V_m 向静息水平返回。请注意 G_K 增加的时程很长（图 5-5a），因此峰电位过后的一段时期内 V_m 实际上将比正常的静息电位**更负**（图 5-5c），即更接近 E_K。这种现象被称为峰电位的**后超极化**（after hyperpolarization）。最后 G_K 又开始下降，在动作电位结束后的某个时间内，膜的通透性返回到它们的正常静息水平。这些变化的时间过程（图 5-5）在各个细胞间可有所不同，但通常轴突的动作电位是非常快的。例如，在枪乌贼巨轴突的动作电位过程中，上述整个事件序列过程在数个毫秒内结束。在其他细胞，例如脊椎动物的垂体细胞，其动作电位可以持续数十毫秒。

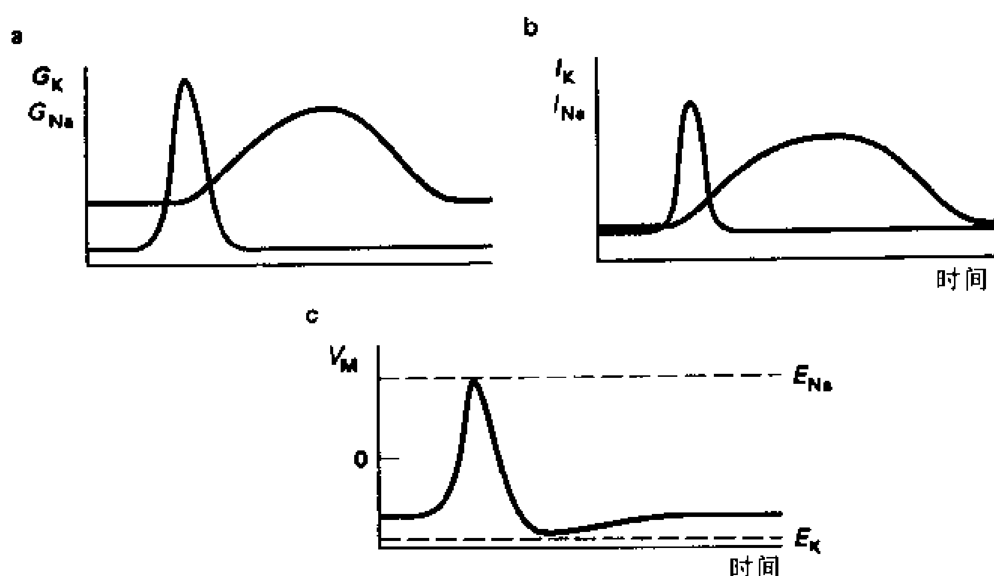


图 5-5 动作电位期间的膜电导、电流和电压。a：动作电位期间的第一个变化是钠电导（G_{Na}）增加到比静息高很多的水平。随后出现较慢和较长的钾电导（G_K）增加。b：钠电流（I_{Na}）和钾电流（I_K）的变化与电导变化一致。c：这些变化的结果是产生具有特征性形状的动作电位。见 Hodgkin 和 Huxley（1952a，b，c）与 Hodgkin 等（1952）。由 Hodgkin 和 Huxley（1952 d）所提供的精确的定量性分析。

枪乌贼巨轴突的电压钳研究　　用以阐明如图 5-5 所述的序列事件发生的一系列研究，一方面可以作为几个天才研究者合作的典范，另一方面也是精选适用实验标本的代表。J.Z.Young，K.C.Cole，Alan Hodgkin 和 Andrew Huxley 在**枪乌贼巨轴突**（squid giant axon）上所做的研究工作是 20 世纪科学的伟大成功史话。Hodgkin 和 Huxley 因此获得了诺贝尔奖，而有人说遗憾的是大西洋的枪乌贼（*Loligo*）却未能获得类似的荣誉。

英国的一位动物学家 Young，在 20 世纪 30 年代中叶发现枪乌贼的外被是由直径达 1 mm 的巨轴突进行支配的。这个巨大的轴突是由大量的较小神经元的融合面形成的。这种轴突可移出动物体外，轴浆可以被挤出，并可用特定离子成分的盐溶液替代；也就是说其跨膜离子梯度可以由实验者来控制。轴突的胞浆膜非常牢固，并且容易存活，且保持电学特性的完整。轴突尺寸的巨大使得容易在其膜内外放置电极以测量（和控制）跨膜电压。控制电压之所以重要，是因为像以前所讨论的，钠和钾电导本身是作为电压的函数面发生变化的，而动作电位期间膜并非处于稳态。很明显去极化作用可引起 G_{Na} 的增加，而 G_{Na}的增加又引起进一步去极化作用。这样依次使 G_{Na}进一步增加，于是一个变化的正反馈环路导致了再生性的全或无动作电位的产生。因此，有效地研究膜电导调节的惟一方法是在面定膜电压条件下测定膜电导的性质。

为了解决这一问题，K.C.Cole 和他的同事们发明了一个电子反馈系统，这个系统被称之为**电压钳**（voltage clamp），用反馈系统来使膜电位保持恒定于研究者所选择的电压水平。在其最简单的形式中（图 5-6a），电压钳是由两个独立的电极组成，其中一个电极连接到电压测量放大器，用以测量跨膜电压，另一个连接到**电流传输放大器**

(current-passing amplifier)。这时再加上一个反馈放大器，就形成了一个负反馈环路，反馈放大器将实验者**指令电压**（$V_{command}$）与测量的 V_m 进行比较。这两种电压的差别称之为误差信号，反馈系统则通过电流传输电极注入电流，使误差信号尽可能维持在零。通过这种方法，迫使 V_m 等于**指令电压**（$V_{command}$）；换句话说，膜电压为实验者所

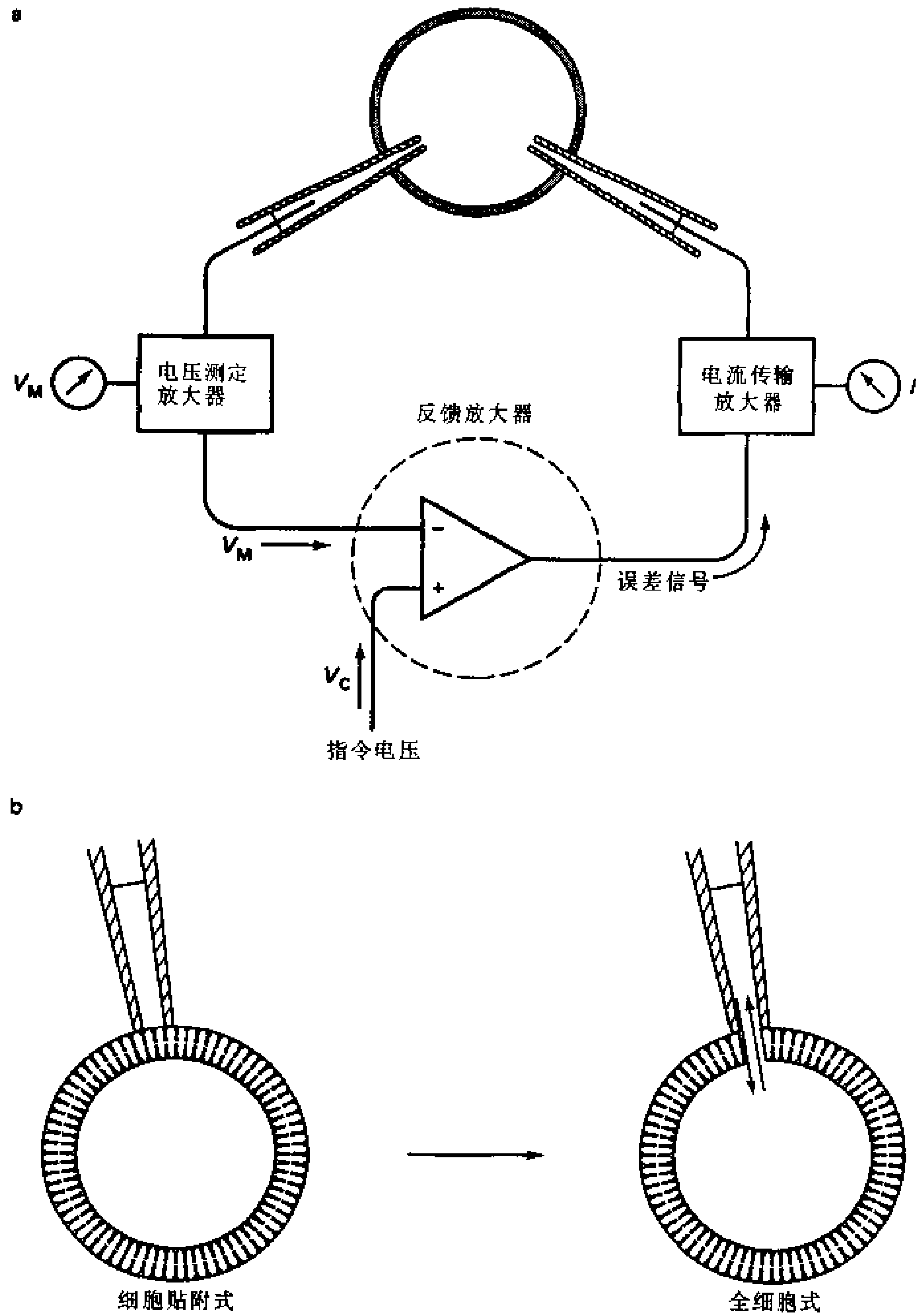


图 5-6 全细胞电流如何测定？a：双电极电压钳制示意图，使用三个独立的放大器来控制膜电压。b：膜片钳记录技术的全细胞模式（见 Hamill 等，1981）。

控制，所测信号就是用以维持指令电压的电流量。实际上这一电流就等于膜在指定电压下的跨膜离子电流。

为测量全细胞电流而发展起来的一种更新的方法是一种膜片钳技术的变异，被称之为**全细胞膜片钳记录**（whole cell patch recording）（图 5-6b）。在这种方法中其膜片电极被封接到细胞上，如第四章描述的那样（见图 4-1），膜片电极下的膜可通过抽吸脉冲或电压急剧变化来破坏。这样微电极中的溶液就能与细胞胞浆自由交换，再通过适当电子仪器和电极内溶液连接就能对细胞进行电压钳制。这种构成可以认为是类似于非常大的外面向外的膜片（图 4-2c），是由胞浆膜的绝大部分组成，具有极大量离子通道使电流跨膜流动。

应用全细胞膜片钳技术经常出现的一个问题是电极溶液和细胞胞浆之间的分子和离子交换（图 5-6b），对细胞的正常功能可能具有破坏性。虽然这种交换也可能有利于某些类型的实验，但是很可能许多有意思的调节现象在全细胞膜片钳记录过程中轻易地消失了。在这种情况下，损伤性较小的细胞内微电极电压钳制不失为好方法。某些细胞太小，不能承受两个独立微电极的插入，这时可用单个微电极进行测量电压和注入电流。为了钳制细胞的电压，在电压测量和电流注入模式之间可按电子学原理来转换电极作用。为了提供有效的电压钳制，这种转换必须很迅速，以便在短暂的测量电压期间，膜电压不会发生显著变化（当没有电流注入和细胞暂时不被钳制时）。由于技术上的原因，这种技术对记录快速和大幅度变化的膜电流几乎是无效的，但对一些小细胞或神经系统完整区域内的细胞，这种技术很有用，因为这些细胞不容易在目视情况下插入两根微电极。

电压和时间依赖性离子流　Hodgkin 和 Huxley（以及 Cole）很快就意识到控制膜电压的重要性，并在电压钳制的枪乌贼巨轴突上进行了一系列的研究实验（被第二次世界大战中断）。要牢记调节跨膜离子电流所涉及的三个参数——离子梯度、电压和离子电导——前二个可由实验者在这一标本上进行控制。因此，膜电导的调节问题得到周密的研究。这些研究结果在 1952 年由 Hodgkin 和 Huxley（其中一位与 Bernard Katz 合作）分别以一系列经典论著发表。这些文章都是很有洞察力的论文，不易阅读，但是对严格要求的神经生理学和膜生物物理学的学生来说这些文章都是基本的。

Hodgkin 和 Huxley 曾提出当你对轴突电压钳制近于静息电位时，再使膜电位发生超极化或者去极化，那么当膜电位返回到原电压（**钳制电位**，holding potential）以前会有什么现象出现呢？如图 5-7a 所示，幅度一样的微小的超极化或去极化脉冲分别产生微小的内向或外向电流。这些**漏电流**（leak currents）是没有时间依赖性的（它们在极短时间内达到最大振幅，以致于记录仪器不能分辨），幅度相同的超极化和去极化就产生幅度相同的内向和外向漏电流。当在脉冲［**脉冲或指令**（pulse or command）电位］引起这些微小的超极化和去极化期间绘制电流幅度对电压的曲线时，结果得到的**电流-电压（*I-V*）关系曲线**是一条直线（图 5-7b）。这种直线性 *I-V* 相互关系也见于非生物电路中的线性电阻器（图 5-7）。这种漏电流由一些未知的非电压、非时间依赖性的离子通道引起。可以看出 *I-V* 曲线于 V_r 处和零电流轴相交。这是不足为奇的，因为 V_r 就被定义为净电流为零时的跨膜电压。

无论超极化电压钳制脉冲的幅度如何，所看到的都是这种线性漏电流。当朝去极化方向给予一个较大的脉冲电位，并且超过产生动作电位的阈值时，会有什么现象出现呢？记住此时膜电压由电压钳制而保持恒定，不允许动作电位的发生。很显然在这些较

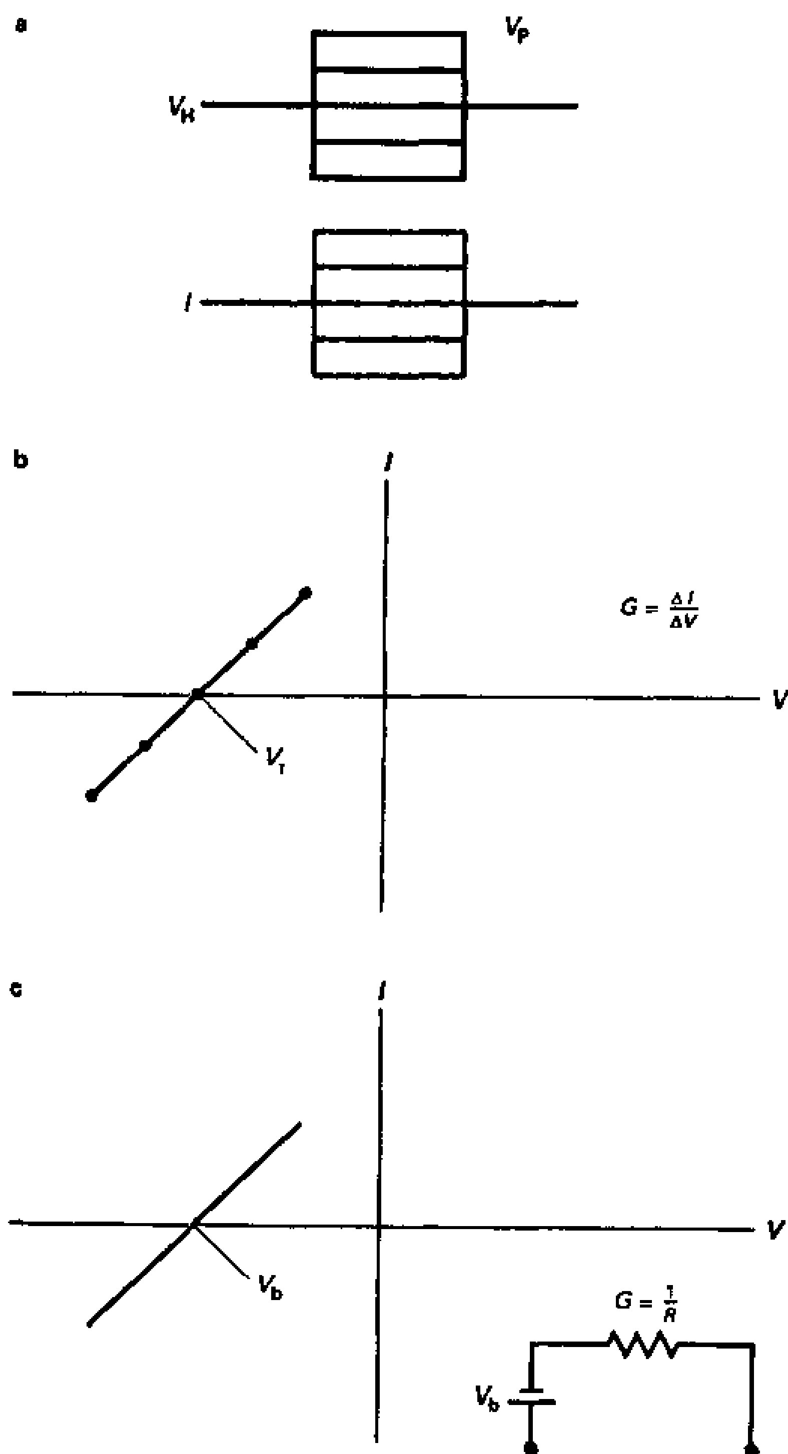


图 5-7　漏电流。a：当从固定电位（V_H）到脉冲电位（V_P）引起微小去极化或超极化电压钳步幅时，可以观察到微小的非时间依赖性的电流（I）。b：以这些电流作为膜电压函数所绘制的曲线图。c：在含有一个电压为 V_b 的电池的非生物电路中的线性电阻器中，可见类似的电流-电压关系曲线。

大的去极化脉冲期间，膜电流不是处于稳态而是呈时间依赖性流动（图 5-8a）。在去极化脉冲开始之后的最初 1 ms 或 2 ms 期间有一个内向流动的（习惯上为负性）电流，然后在脉冲以后的时程内，此电流反转极性而变得外向流动或者说变成正性。当在不同的指定电压下施予一系列这样的脉冲，就可产生一组如图 5-8b 所示的曲线。应当注意到随着电压脉冲幅度的增高，电流的早期内向成分首先上升，然后开始下降，直至反转极性，且在非常大的去极化状态时变成外向电流。和早期成分相比电流的晚期外向成分仍然保持外向，而且其幅值随着去极化程度的增大持续增大。

施加的膜电压和此电压下的膜电流之间的相互关系可通过绘制 *I-V* 曲线进行更详细的研究。在不同时间测定膜电流就可分别检测出电流的早期和晚期成分。**内向电流峰值**（peak inward current）（通常在给予脉冲电位后约 1～2 ms）被作为早成分的指标，而接近脉冲末期的膜电流是晚成分（Hodgkin 和 Huxley 把它称作**迟发型** delayed 外向电流）。下面我们将会了解到，早和晚成分也可根据其他准则区分开来，如根据它们的动力学性质进行区分早和晚成分肯定合适。图 5-8c 中的 *I-V* 曲线证实了从观察电流变化曲线本身所得出的这些结论。电流的两个成分表现出显著的非线性的 *I-V* 曲线，早内向成分在幅度上首先上升，然后下降，再后反转极性。晚外向成分在被观测的电压范围内持续上升（斜率增大）。那么在很大的去极化作用下，膜不再表现为一个线性电阻器，而是起整流作用，在此电压范围内膜电导表现为**电压依赖性**（voltage-dependent）。正如我们在第 4 章中对电压依赖性离子门控通道的讨论中所了解到的，这些电导的变化是由于引起膜电流的通道的电依赖性开放概率变化造成的。

钠和钾携带的内向和外向膜电流　Hadgkin 和 Huxley 注意到早发内向电流具有合适的极性、振幅、电压依赖性以及动力学来担负动作电位上升相。例如，内向电流只有在膜电位从静息发生去极化时才能产生的事实，为动作电位产生具有阈值的现象提供了一种解释。同样，担负复极化过程的迟发的外向电流具有恢复原来状态的特征。随后他们继续用一系列**离子替代**（ion substitution）实验来确定是哪一种离子作为内向和外向电流的电荷载体。当移去细胞外介质中的钠，并用等量的非通透性一价阳离子（如胆碱）代替时，则膜电流的晚发成分不受影响，而其早发成分在整个检测电压范围内都是外向的。这是因为此时钠浓度梯度被反转了，因而当钠通道开放时，钠是通过钠通道离开胞浆而不是进入胞浆。当在一个大范围内改变细胞外钠浓度以引起 E_{Na}有次序地改变时，可以发现早发膜电流的 V_r 始终等于 E_{Na}。这就证实了膜电流的早发成分完全由钠所携带，而任何其他离子的作用是没有意义的。

延迟电流（delayed current）不受细胞外钠浓度的影响。Hodgkin 和 Huxley 推测延迟电流可能是由钾离子外向流动所携带的，但因为难以在改变细胞内钾浓度的同时而不损伤轴突，所以这个观点当时没能得到直接证实。然而，在随后的枪乌贼轴突和其他类型细胞的离子替代实验证实了延迟电流的 V_r 总是等于 E_K，表明钾，而且只有钾才是这一电流成分的电荷载体。由于它的动力学，以及它在 *I-V* 曲线中起整流作用的电压依赖性门控作用，因而这种电流往往就被称为**延迟整流钾电流**（delayed rectifier potassium current）。

药理学的工具在分离轴突电流的这两种成分上也被证明是极为有用的。正如第 4 章

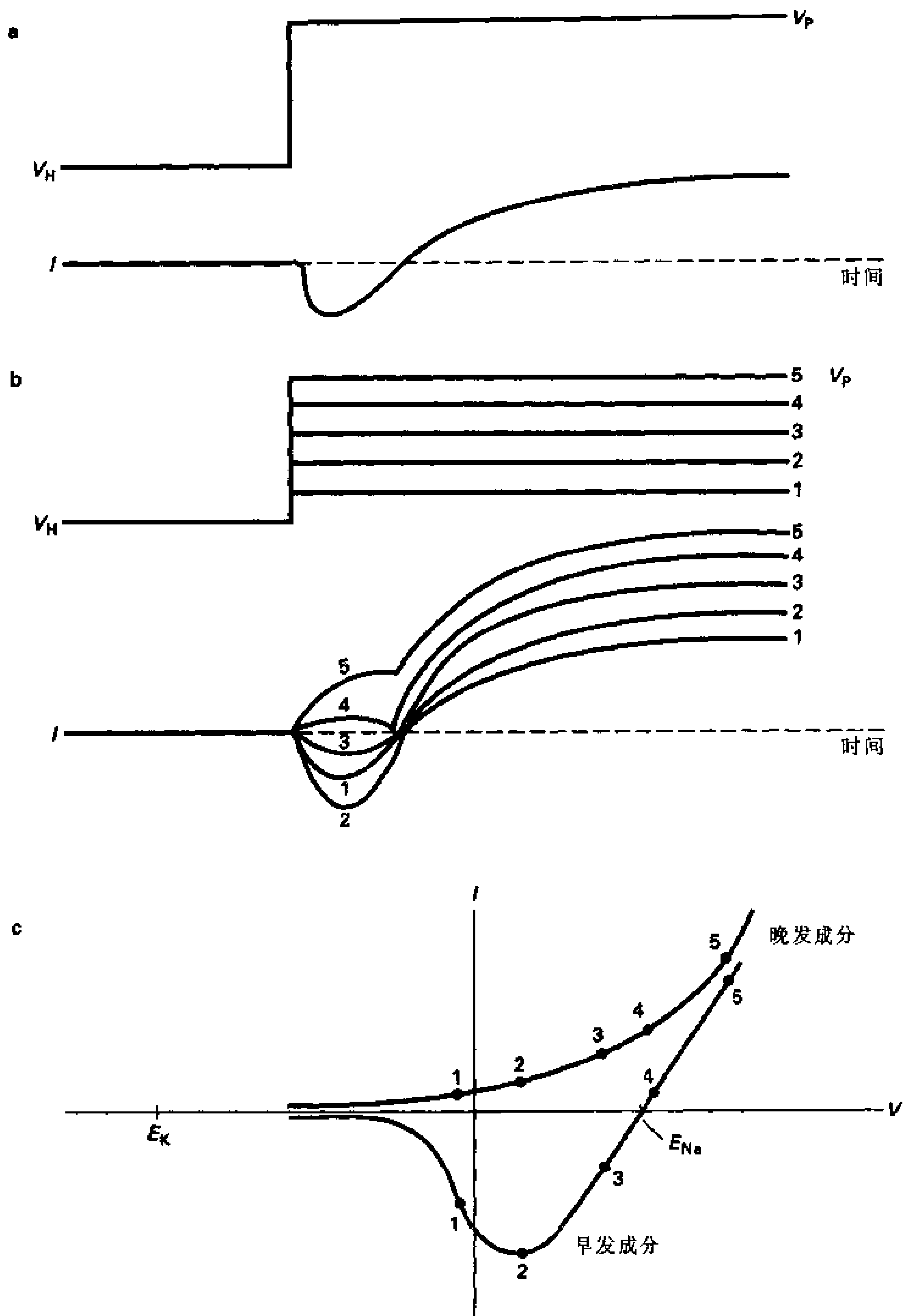


图5-8 非线性电压依赖性电流。a：当去极化脉冲比图5-7中的脉冲大得多时，可见到时间依赖性电流的流动。在维持去极化作用期间，出现内向的膜电流早成分和外向的膜电流晚成分。b：按不同的去极化脉冲电位施于一系列脉冲时，膜电流随电压以特征性的方式改变。c：以早晚电流峰值作为膜电压函数所绘制的曲线（参阅 Hodgkin 和 Huxley，1952 a，b，c；Hodgkin 等，1952）。

曾提到过的，日本的 Puffer 鱼毒素**河豚毒素**（tetrodotoxin，TTX）是钠通道一种强有力的选择性的阻滞剂（图 4-8)。在 TTX 的作用下，膜电流的早发成分被消除，因而就可以单独研究延迟钾电流成分（图 5-9)。

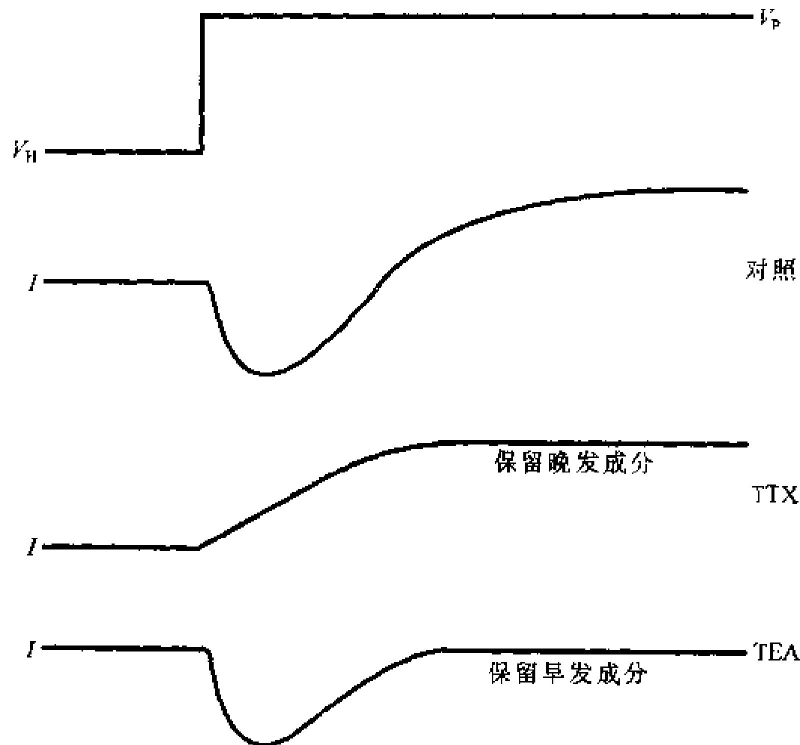


图 5-9 药理学试剂选择性地阻滞膜电流的早发和晚发成分。河豚毒素(TTX) 阻滞膜电流的早发成分，而四乙胺（tetraethylammonium，TEA）只阻滞晚发成分。

有趣的是，在日本 Puffer 鱼 是一道美味佳肴，为了准备这道菜，厨师们要接受专门训练以去除含 TTX 的器官，但是因为小剂量 TTX 使人兴奋，所以这些器官不能被完全剔除。显然这是这道菜如此受欢迎的一个主要原因。尽管这些训练有素的厨师们的技艺不容置疑，但是错误仍在所难免，在日本每年仍有几例死于 TTX 中毒。

钾通道阻滞剂的故事（直到最近）就不那么精彩了，若干带有**季胺基团**（quaternary ammonium groups）的有机化合物，其中最常用的**四乙胺**（tetraethrylammonium，TEA）就是枪乌贼轴突中延迟整流钾电流的选择性阻滞剂，可用它单独地检测轴突早发的钠电流（图 5-9)。正如我们在下一章将要看到的，神经细胞中可能存在许多种钾电流，但这些阻滞剂对这些钾电流的影响程度各不相同。最近，由于某些毒素的发现，钾通道的药理学得到了发展。例如，**蜂毒** apamin（bee venom toxin，apamin)、**蝎毒**成分 charybdotoxin（scorpion venom component，charydotoxin）和**蛇毒** dendrotoxin（snake venom tot，dendrotoxin）能选择性地阻滞某些类别的钾通道。

钠电流失活　动作电位一个基本的特征是由膜的去极化作用而激活钠电流。但正如我们已了解的，去极化作用不仅启动了钠电流，其后也很快地终止了钠电流。这种**失活**（inactivation）发生在去极化脉冲期间。它与**去激活**（deactivation）（或者说激活作用

的反转）不同，去激活出现在脉冲结束以后，是因为膜电压返回到超极化钳制电位水平造成的。钠电流的失活自然反映了各个钠通道的失活（图 5-4）。图 5-9 的分析，可使我们明白在去极化脉冲期间从净内向电流到净外向电流的转换，不仅是由于迟发的外向钾电流启动的缓慢，也是由于相反的内向钠电流失活和消失造成的。

图 5-10 用卡通画的形式总结了钠通道的相继发生的激活、失活及复活状态。在静息条件（左上）下，上方的激活门是关闭的，因而没有电流流过。当膜去极化时，此激活门发生了电压依赖性开放。如右上图所示，此时通道开放，电流流过。同样的去极化作用打开激活门，也使下方的失活门缓慢关闭（右下）。由于失活门是关闭的，尽管激活门仍旧开放，也没有电流可以流过。在去极化脉冲结束以后出现了去激活状态，即激活状态的反转，因而激活门关闭。电流再一次不能流过（左下）。此时去极化作用不能诱发任何电流，因为即使去极化作用致使激活门开放，失活门在脉冲之后仍保持一段时间的关闭。只有失活作用消除之后，通道才能回到其静息状态（左上），也才能被去极化作用打开。在第 4 章中我们了解到 β 亚单位（β-subunits），或者 α 亚单位特定区域中的突变均能影响钠通道的失活。下一章我们将讨论生物化学和分子生物学的方法，这些方法可以为钠和其他离子通道的电压依赖性激活门和失活门的结构提供更详细的资料。

我们怎样才知道图 5-10 中的卡通画就是对钠通道如何失活的合理描述呢？钠电流的失活可应用**条件前脉冲**（conditioning prepulses）来研究，条件前脉冲就是在用于测定钠电流的电压钳制测试脉冲之前所给予的脉冲。如果膜刚好在测试脉冲之前发生短暂的

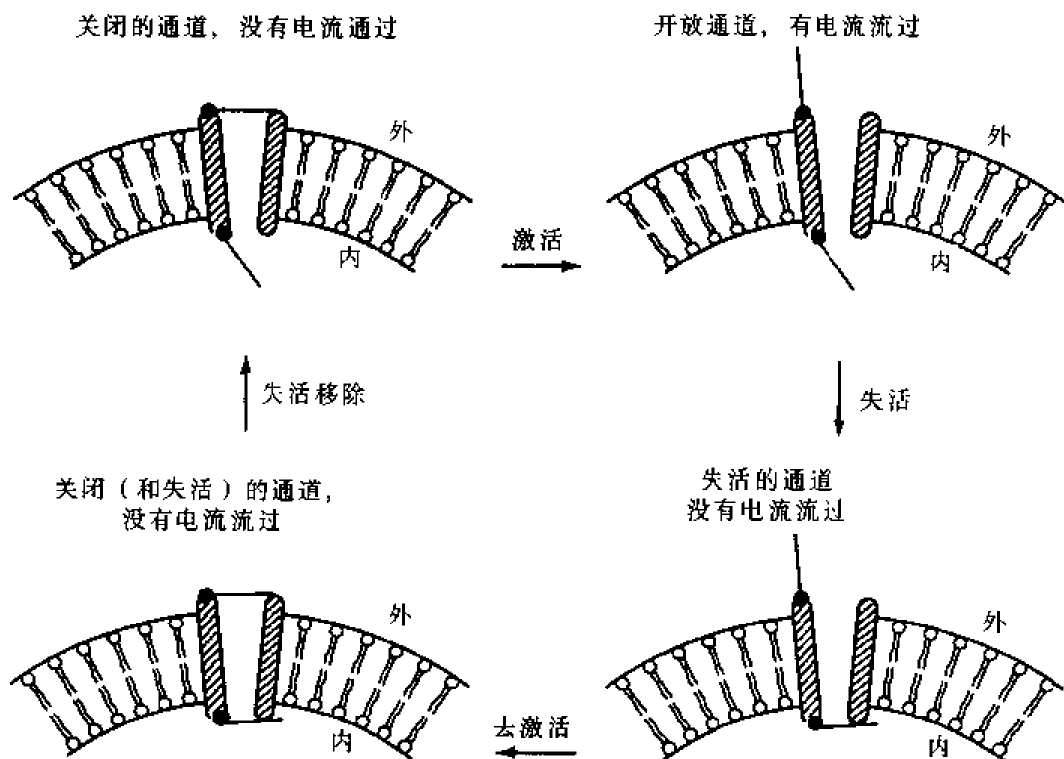


图 5-10 电压依赖性钠通道的开放、关闭和失活的转变。在去极化脉冲期间和过后，钠通道门控状态转变的总结。细节见正文。

去极化（条件脉冲），就会发现钠电流振幅比没有条件前脉冲时小（图 5-11a）。这时因为条件前脉冲的去极化作用已经引起了部分电流的失活，而且在施加测试脉冲时尚未从失活状态中恢复过来。相反当给予**超极化条件前脉冲**（hyperpolarizing prepulse）时，测试脉冲期间的钠电流就会比对照组大（图 5-11b）。这表明常常和细胞静息电位相近的钳制电压其去极化水平就足以引起某种静息或稳态的失活作用，而这失活可被超极化条件前脉冲消除掉。这一点可从膜电压和失活程度相互关系的曲线中得到阐明（图 5-

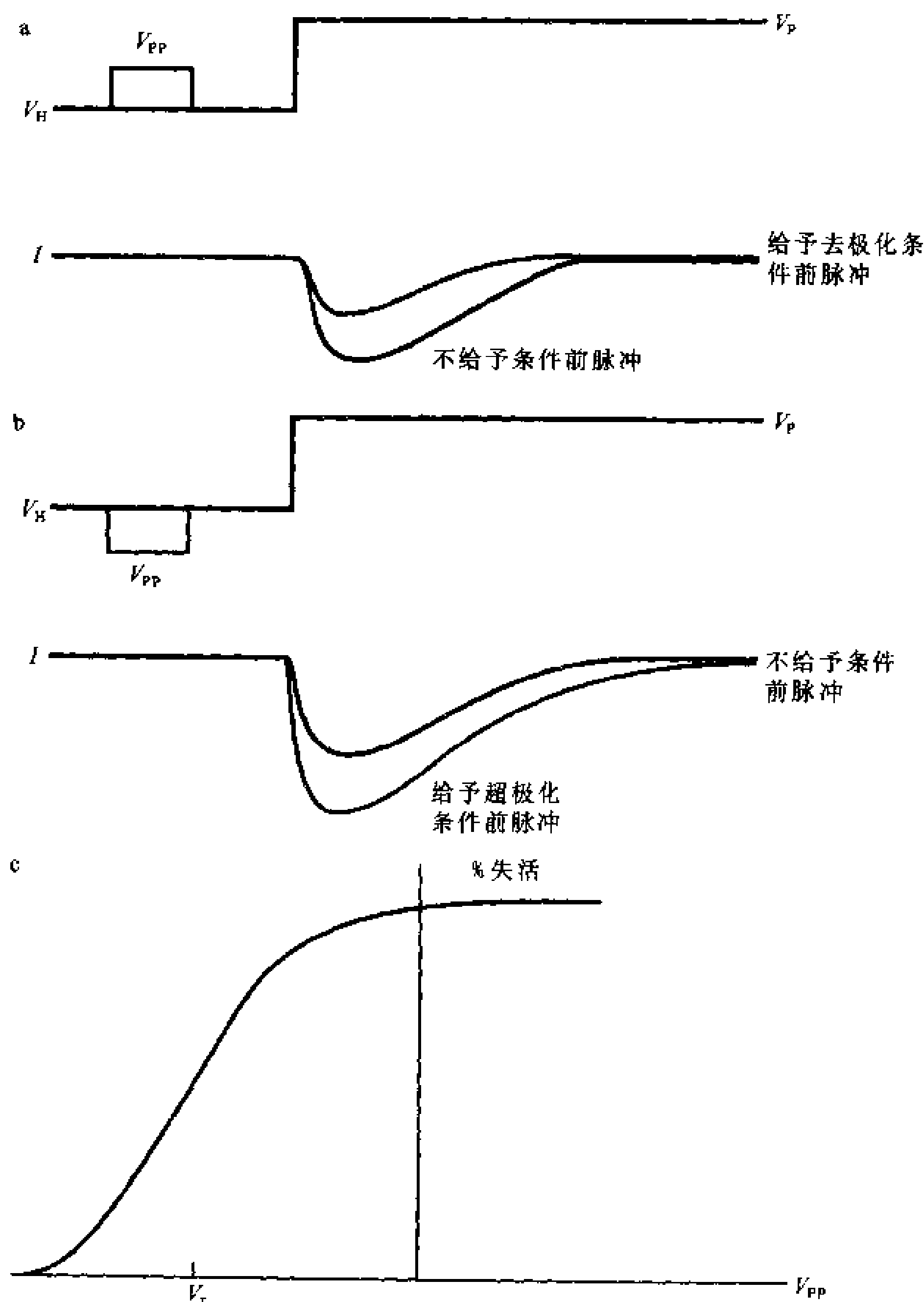


图 5-11　钠电流的失活。当膜电流的晚发成分被阻滞时，例如用 TEA，就有可能单独地研究钠电流的动力学。去极化（a）或超级化（b）条件前脉冲（V_{PP}）对在随后的去极化脉冲（V_P）期间产生的钠电流振幅的影响。c：作为电压函数的失活度。

11c)。

可见钠通道失活是一个时间依赖性的过程，它在动作电位期间发生的内向电流转变为外向电流的过程中发挥作用。失活钠电流的恢复过程也是时间依赖性的。失活状态的复活时程可以通过改变去极化条件前脉冲和测试脉冲之间的时间间隔来进行研究。条件前脉冲造成的失活恢复到钠电流的正常振幅需要数 10 ms。典型的是在枪乌贼轴突中大约 15 ms 之后才恢复到一半。当然这意味着钠电流的失活比其引起的动作电位时程更长久。

失活钠通道复活时程的长久具有深远的功能意义。由于动作电位的峰值是使通道完全失活的电压水平（图 5-11c），钠电流将失活一段时间，此时细胞将不能引发第二个动作电位，直到失活状态有足够的恢复。那么很显然，**钠通道失活**（sodium channel inactivation）是**出现不应期的离子机制**（ionic mechanism underlying the refractory period）。在不应期期间阈值的提高反映了钠通道的失活，而阈值返回到正常（图 3-6）则是指失活的消除。钠通道的失活有效地决定了轴突动作电位频率的上限。然而我们应该看到一些钾通道也参与决定神经元放电的实际速率。

离子泵维持离子的浓度梯度　神经元显然不能永远不断地发放动作电位。当膜电流流动时，离子就顺其浓度梯度移动。稳态时这种电流比较小，但动作电位期间自然大得多。如果动作电位连续发放，最终膜两侧的钠和钾的浓度将相等，膜电位将为零，可

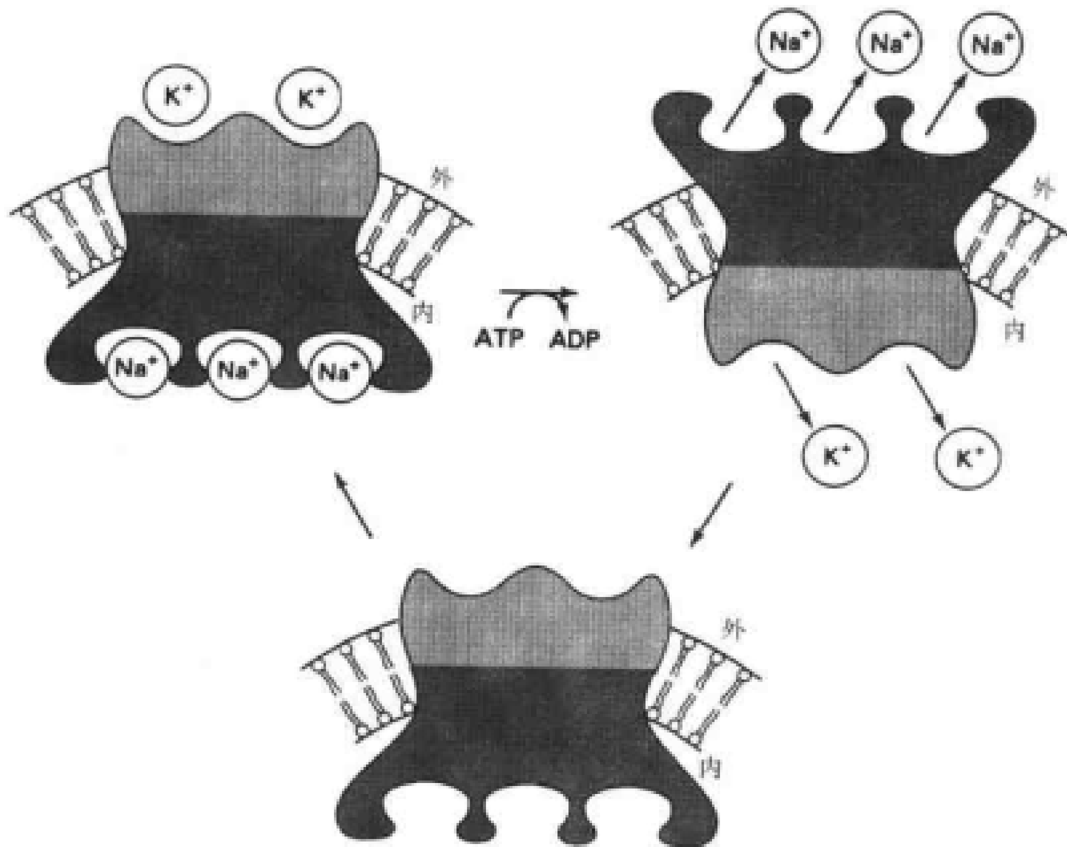


图 5-12　钠-钾-ATP 酶。图中描绘的是 ATP 酶，一种胞浆膜泵，它利用水解 ATP 获得的能量将三个钠离子从细胞内移到细胞外，同时从细胞外将两个钾离子移到细胞内。

以用“死亡”这个词来描述细胞的这种状态。像枪乌贼巨轴突那样大小的轴突，其离子浓度梯度需要长时间才能衰减。但在较小的细胞发生相对较小的动作电位之后，其离子浓度梯度就可能发生显著的变化。所幸运的是损害造成之前，就有能量驱动泵来进行补救。

一种特殊的主动离子转运体，即**钠-钾-ATP 酶**（sodium-potassium-ATPase）或**钠-钾泵**（sodium-potassium pump），介导将钠泵出或将钾泵入细胞来维持离子浓度梯度。换另一种说法就是这种泵担负着为**膜电池充电**（charging up the membrane battery）的作用。这种泵是一种水解 ATP 的酶，利用能量逆着浓度梯度转运每一种离子（图 5-12）。这种转运活动可能与膜中该泵的某种形式的移动或旋转有关。钠-钾-ATP 酶的化学计量，即钠和钾的转运比值，并不是 1:1，而是 3:2。换句话说，每三个钠离子被转运到细胞外就有二个钾离子被转运到细胞内，结果泵产生了一个净外向电流。这种类型的泵就叫做**生电泵**（electrogenic pump），因为它的活动引起细胞超级化，也有助于静息电位的建立（虽然通常所起的作用是很有限的）。

虽然我们并没有强调泵对神经元兴奋性所起的作用，但是我们可以看到离子泵的确起着必不可少的作用。它们并不像那些允许离子快速流过的离子通道那样耀眼，但它们总是在幕后默默地工作着以确保离子浓度梯度的维持，而这些离子浓度梯度则是电信号的基础。

小结

离子通过神经元质膜中的离子通道群体顺着其电化学梯度流动，就产生跨膜离子电流。正是那些随时流动的各种电流的总和决定着神经元的膜电位。因此，一个神经元的正常放电模式，以及对不同刺激的反应，可被看作是膜中各种离子通道产生的电流之间相互作用的一种表现。与轴突动作电位有关的钠和钾通道的活动依赖于膜电压。电压钳研究允许在电压固定时测定通过这些通道的电流，电压钳的系列研究使我们更深入地理解动作电位产生时离子通道活动的过程。

6

电压依赖性离子通道的多样性、结构和功能

到目前为止，我们一直在讨论的轴突膜似乎只有两种离子电流，一种是电压依赖性钾电流，它担负着静息时轴突的电活动（更确切地说，它缺乏活动性），另一种是电压依赖性钠电流，它是动作电位期间大而快速的膜去极化作用的基础。尽管 Hodgkin 和 Huxley 的工作表明了这两种电流可为枪乌贼巨轴突的电活动提供一个合理而精确的解释，但现已证明在轴突中存在着离子电流相当程度的多样性，可能在神经细胞的胞体及树突中甚至有更显著的多样性。

细胞胞体和树突的电行为较轴突倾向于更加多变。某些神经细胞的胞体不能发放动作电位，因而被说成是**非电兴奋的**（electrically inexitable），因为它们缺乏快速的电压依赖性钠电流。第 3 章中描述过的另一些神经元对外来刺激则产生节律性、爆发性和广泛范围的反应。这种神经元的胞体可能存在许多其他的离子电流，这些电流是与经典的动作电位电流同时存在的，或者是取代了它们而独立存在的。这些其他的电流可能受以下因素的调节：① 电压；② 神经递质，它们与通道的细胞外侧上的受体位点相结合；③ 细胞内钙；④ 细胞内代谢的调质；或⑤这些因素的某种组合。这些其他的电流间的相互作用产生了诸如海兔（*Aplysia*）R15 神经元所表现的那种神经元电活动的复杂形式（见图 3-11c）。

因为离子电流反映了离子通道的活动，所以离子电流的多样性必定和作为它们基础的离子通道的同等多样性相匹配。单通道记录和分子克隆技术已经表明这种多样性甚至比所想象的更大；在许多场合中，这些技术揭示了以前认为由单一离子通道群体所携带的电流，事实上反映了若干不同类别离子通道的活动。只有掌握离子通道的分子和生物物理特性的知识，我们才能设计出实验策略，以研究宏观电流以及它们在神经元电行为中的作用。

电压依赖性离子通道

本章将集中讨论电压依赖性离子通道主要种类的多样性和分子结构（见表 6-1）。我们并非有意忽视**神经递质门控性**（neurotransmitter-gated）离子通道，这些通道对化学性突触传递及神经元电特性的调制是必不可少的。我们将在下面的章节中深入地讨论这一组通道，包括各种钾通道、钙通道和氯通道。某些神经递质门控性通道也是电压依赖性的，而以前认为的这两种类别之间的绝对分界现在正变得越来越模糊。因此，这里选出所讨论的通道（而不是在以后的章节中所讨论的）自然是有点儿主观性的。

表 6-1　电压依赖性离子通道主要种类的例子

通道类型	激活的电压范围	生理功能
轴突钠通道	−30 至 +20 mV	动作电位的上升支
钙通道	不定	钙动作电位；钙介导的细胞内事件，包括神经递质的释放
钾通道	极易变异	动作电位的复极化；动作电位的间隔；静息电位的调节

钙通道

轴突中对产生内向电流最重要的通道是电压依赖性的钠通道，它的特性和结构已在前两章中讨论过了。然而，在许多神经细胞胞体（和某些轴突及树突中）存在若干其他类别的通道，它们本质上有助于内向电流的流动，是允许钠和钾流经的非选择性的阳离子通道。这些通道的分子特性尚未研究透彻，我们将不作进一步讨论。让我们集中讨论钙通道，它们在神经元（和其他细胞）的生命活动中起着关键的作用。

钙电流　　在大多数神经元中，去极化电压钳制步骤可诱发出与枪乌贼轴突中所见到的在动力学上非常不同的内向电流。与在枪乌贼轴突中的电流相比，这种电流可能较缓慢地上升到它的顶峰，而失活只是部分地并且更加缓慢地发生（图 6-1a）。当应用药理学处理和/或离子替换以消除钠电流时，通过去极化脉冲仍然能够引出缓慢上升到它的顶峰和仅仅部分地失活（即使有的话）的内向电流（图 6-1a）。事实上在这些条件下当神经元从电压钳制中解除时，往往可发现它仍能发放动作电位，即使在完全缺乏钠电流时也是如此，尽管这些动作电位的形状和时程与钠电流存在时观察到的可能非常不同（图 6-1b）。进一步的离子替换实验揭示了大部分神经元存在着本质上是**电压依赖性的钙电流**（voltage-dependent calcium current，I_{Ca}），在某些情况下，它担负着动作电位上升相期间的大部分或全部的再生性去极化作用。

有趣的是 Hodgkin 和 Huxley 非常卓越的研究，这些研究确认钠电流和钾电流对枪乌贼轴突中的动作电位是必需的和充足的，因此导致了对钙电流领域中先驱者们的工作提出了质疑。虽然钙电流实验经得起严格的考查，但仍有部分不足，由于存在另一种离子流，神经生理学家们使膜兴奋性的简单而令人满意的描绘复杂化了。20 世纪 60 年代神经生理学界确信在未来的岁月里这种简单的描绘将得到巨大的修正。

钙通道的多样性　　在某些神经元中，钙电流峰值作为电压函数的曲线图（图 6-1c）非常类似于钠电流（图 5-8c），除了它在极度去极化的电压下才接近于零，而这反映了钙反转电位 E_{Ca}的更大的去极化值。在其他神经元中，这个曲线看来要复杂得多，表明不止单一的钙通道群体引起了电流-电压关系。事实上用单通道记录进行更详细的检查，可以证实甚至较简单的 *I-V* 关系都是由一种以上的钙通道产生的。现在看来在许多神经元中存在着若干不同种类的钙通道，可根据它们的电压依赖性、动力学、单通道电导、药理学和分子结构，以及它们在神经元中的定位加以区分。

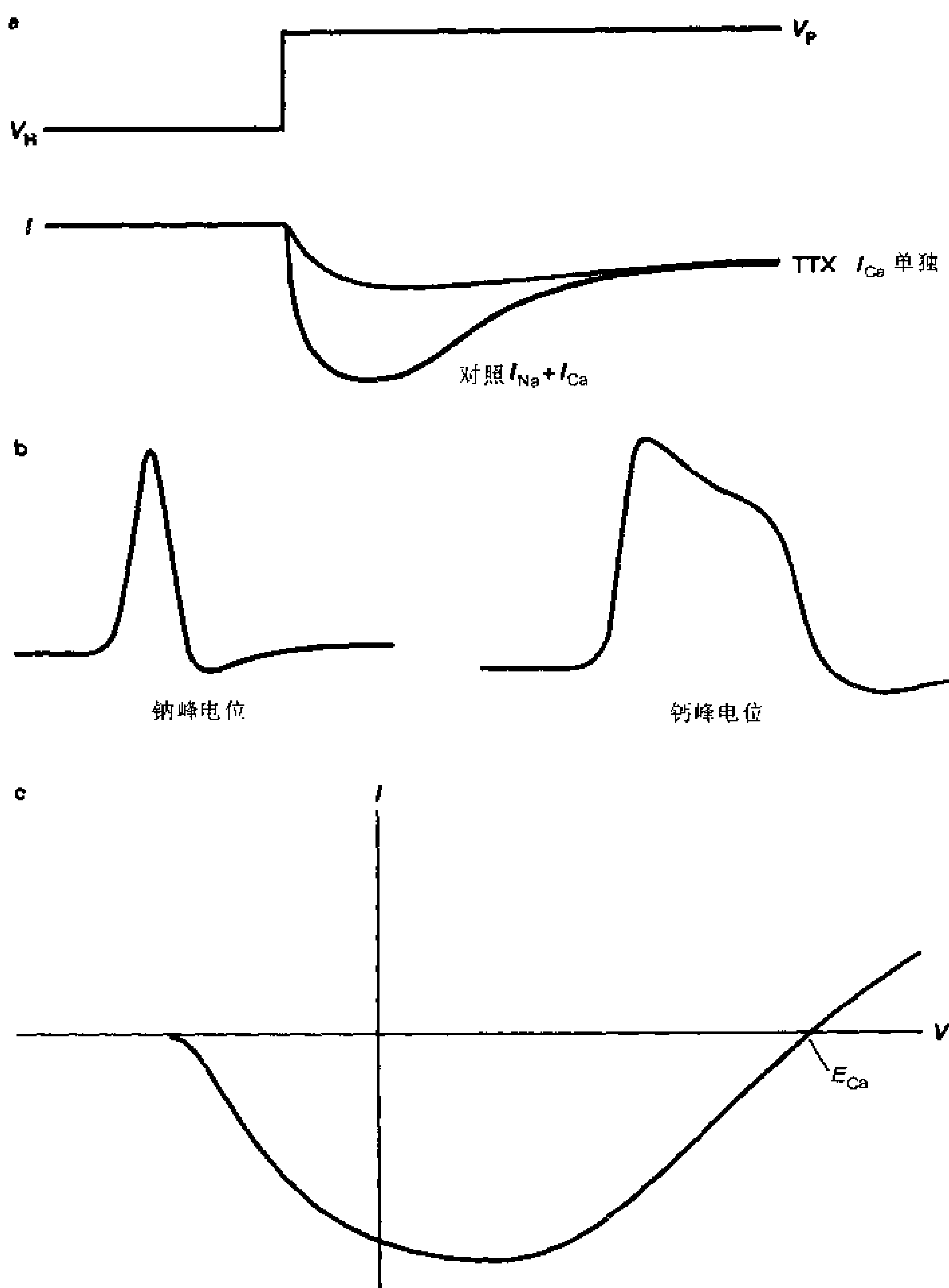


图 6-1 由钙离子携带的电流。a：当应用 TTX 阻断内向电流的钠成分（I_{Na}）时，钙电流成分（I_{Ca}）仍然保留。b：钠动作电位与细胞中主要由钙携带的内向电流的动作电位形成了对比。c：钙电流的电流-电压关系。

药理学探针确定钙通道的多样性 正如我们已经了解的钠通道的情况一样，选择性的药物和毒素在鉴定和区别钙电流的不同成分中是特别有用的。**二氢吡啶族**（dihydropyridines）是一组合成的有机化合物（图 6-2a），它们与表现为长时程宏观膜电流的

一种特殊类别的称之为 L 型（L-type）的通道相结合。二氢吡啶**阻滞剂**（antagonists）引起 L 型通道去活动状态的时间减少，而其**激动剂**（agonists）则促进以较长时间通道开放为特征的更为活跃的通道活动模式（图 6-2b)。其他类型的钙通道对二氢吡啶是不敏感的，但可通过它们与肽类毒素的相互作用加以鉴定。例如为鱼所捕食的圆锥形蜗牛(fish-hunting cone snail，*Conus geographus*）的毒液，含有一种 27 个氨基酸组成的称作 **ω-conotoxin GVIA** 的多肽（图 6 3)。此肽可抑制神经元中称为 N 型钙电流的另一类型钙电流。在漏斗网蜘蛛（funnel web spider，*Agelenopsis aperta*）的毒液中发现了另一种较大的肽毒素 **ω-Agatoxin IVA**（图 6-3)，它可选择性地抑制一种称作 P 型通道的钙通道，这种通道担负着小脑浦肯野神经元中的大部分钙电流。像许多其他小的生物活性肽一样，这些毒素含有多个二硫键（图 6-3)，这可能使它们获得了与不同类别钙通道选择性结合所必需的**刚性三维结构**（rigid three-dimensional structure)。

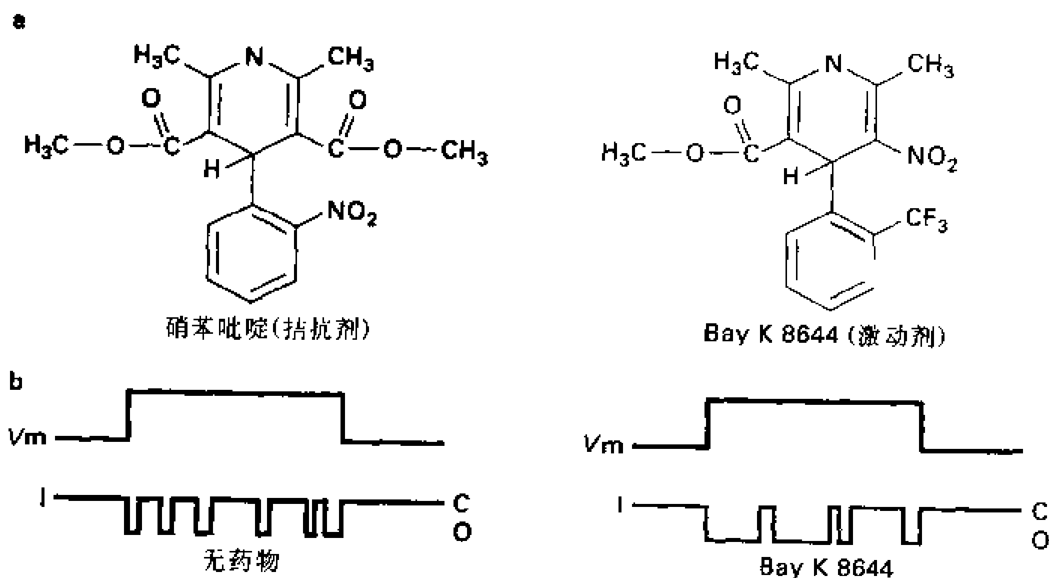


图 6-2 二氢吡啶族调制钙通道的活性。a：一种二氢吡啶拮抗剂和激动剂的结构。b：在没有或存在 DHP 激动剂条件下 L-型钙通道的活动。

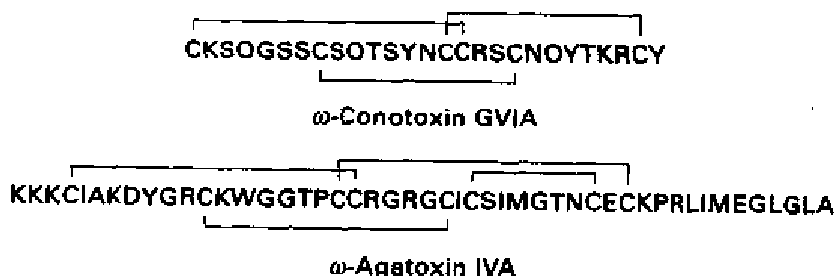


图6-3 阻滞钙通道的肽类毒素。两种有用的毒素的序列(单个字母表示氨基酸编码；O＝羟脯氨酸)。注意在半胱氨酸(C)残基之间有多重二硫键。

钙通道的纯化和克隆　通过类似于在第 4 章中所描述的处理钠通道的那些方法，这些特效的药理学制剂已被用于从若干不同组织中纯化钙通道。像在钠通道中的情况一样，存在一个命名为 α_1 的足以形成一个功能性电压依赖性钙通道的较大的亚单位（175 ~ 230 kDa）和一个或更多个较小的亚单位（β，γ，α_2 和 δ；见图 6-4a）。虽然较小的亚单位对通道的活动并非**必需**，但它们确实与 α_1 亚单位相互作用并**调制**（modulate）该通道的动力学特性。按照第 4 章中描述的对钠通道的基于蛋白质序列的分子克隆技术，已经揭示了上述功能性和药理学多样性的结构基础。对 α_1 和 β 亚单位分别至少有 6 个和 4 个不同的基因被鉴定出来（图 6-4b）。而且，所有的 α_1 亚单位和大部分 β 亚单位的信使 RNA 转录可进行**选择性剪接**（alternative splicing）（图 6-4b），选择性剪接是一种由单一基因产生若干不同的信使 RNA 和由此产生若干不同蛋白质的方法（这将在以后我们论述钾通道的分子结构时进行详细的讨论）。最低限度是有至少 16 个钙通道 α_1 亚单位在脑中表达，而当考虑到它们与 β 和其他亚单位相互结合时，则组合可能性的数目是巨大的。面对这种分子的异源性，由钙电流的动力学及药理学所显示的多样性显得相形见绌了。

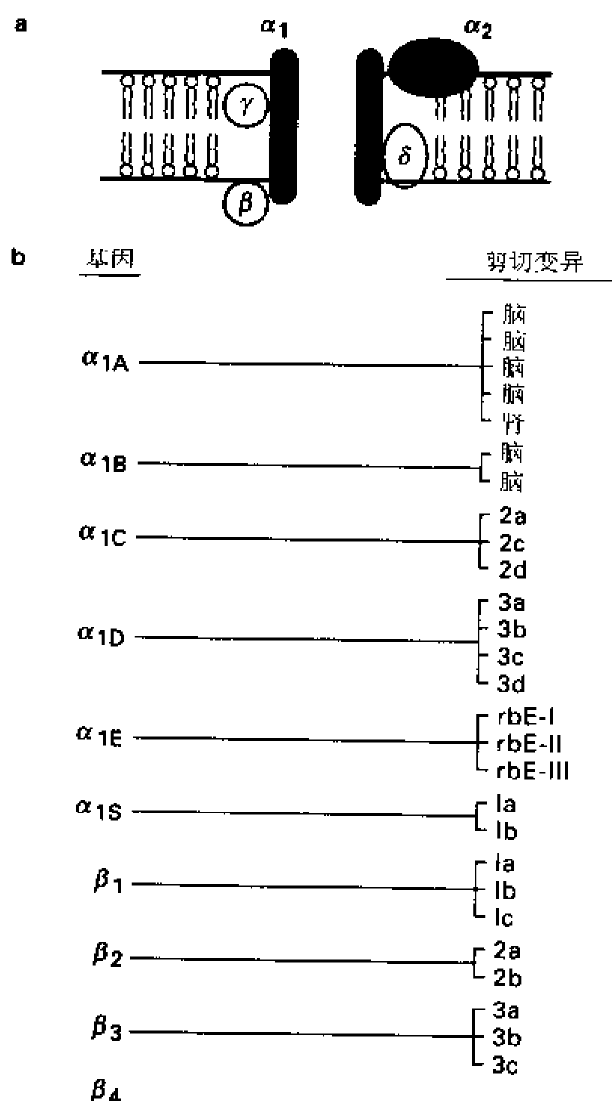


图 6-4　钙通道的亚单位。a：纯化的钙通道由多达 5 种类型的亚单位组成。b：多种基因和交替性剪切有助于钙通道多样性的形成（改自 Dunlap et al.，1995）。

钙通道的分子结构　从分子克隆技术中，我们对钙通道的结构和功能已经了解到些什么呢？首先，正如以上所强调的，异源性表达提示我们存在一个单一的多肽，即 α_1 亚单位，它能够形成一个功能性的通道，但通道的性质可被辅助蛋白亚单位的**协同表达**（coexpression）所调制。这自然使我们回忆起第 4 章中所描述的钠通道的情形。从 α_1 亚单位氨基酸序列预见的钙通道蛋白的膜结构与钠通道有显著的相似。疏水图预测为 24 个跨膜节区，它可被分为四个同源结构域，而每一结构域由六个跨膜区组成。这种结构与钠通道的结构是如此的相似，以致于我们不需要在此提供一个新的图解，而只要告诉读者去参考图 4-10 中钠通道结构的卡通画就可以了。正如我们在下文将要看到的，这种总体结构的同源性和辅助蛋白亚单位的作用也同样会在电压依赖性钾通道中出现。

钙通道是特殊的通道　由于钙远不只是一种简单的跨胞浆膜的电荷载体，因而钙通道特别重要。虽然钙离子在动作电位和神经元电活动的其他方面、起着不可缺少的作用，但这种作用对于钙的细胞内信使作用来说是次要的。进入细胞内的钙与钙结合蛋白相互作用可以调节各种细胞内的酶。此外，细胞内钙离子还调节若干类型离子通道的门控，甚至能反馈参与其自身通道的失活调控。另外，神经元信号作用的一个基本特征，即化学神经递质在突触处的释放，也是直接受控于细胞内钙的。从这种意义上说，钙可被看作是在细胞内电信号即去极化作用转变为化学信号的**换能器**（transducer）。

所有这些特征使得钙与众不同。因而钙通道本身的活动在心肌和骨骼肌以及神经元中受复杂的调制是不足为奇的。纵览本书我们将会得知更多有关钙通道活动的调节和效应的资料。

携带外向电流的通道：钾通通

和钙通道的多样性相比，钾通道所呈现的多样性很可能更令人印象深刻。根据电压钳制实验，首先鉴定出大约半打或更多的电压依赖性钾电流。随着单通道和分子生物学方法的应用，这个数字已经显著地增加了。像在其他通道的情况一样，动力学、电压依赖性、药理学、单通道特性以及分子结构也都用于研究各种钾通道的特点。在此我们将简要地总结这些通道中的某些通道的生理特性，然后继续讨论它们的克隆及分子结构。

钙依赖性钾电流　在大多数细胞，如已广泛用于膜电流的电压钳制研究的许多软体动物神经元的大细胞体中，由钾所携带的总外向电流呈现出一种与在枪乌贼轴突（squid axon）中所见的非常不同的稳态 *I-V* 关系（我们在此使用的“稳态”这个术语是指在去极化脉冲发生之后数十或数百毫秒所测量的持续的非失活电流）。此电流-电压曲线在去极化的电压范围内有一个特征性的“N”形态（图 6-5a），因为它是若干性质不同的电流成分的总合（图 6-5b，c）。当用一种与钙紧密结合的药剂；如 EGTA 注入细胞内或通过钙通道的药理学阻断以阻止去极化期间的钙进入时，则 *I-V* 曲线（图 6-5b）看上去和枪乌贼轴突中延迟整流型钾电流的 *I-V* 曲线相同（与图 5-8c 相比较）。当检测其动力学、电压依赖性和药理学时，可以看到这种电流呈现出典型的延迟整流的性质，这一点我们已经在第 5 章中讨论过了。

对正电压时稳态 *I-V* 曲线的形态起重要作用的另一外向电流成分，是一种通过阻止钙进入或结合细胞内钙而被阻断的成分。它是一种**钙依赖性钾电流**（calcium-dependent potassium currents）。它的 *I-V* 曲线（图 6-5b）是由总外向电流减去延迟整流成分而获得的。这种电流部分地是被去极化作用本身所激活，但也可被去极化电压脉冲期间进入的钙激活（图 6-5c）。比较图 6-5b 中的 *I-V* 曲线和图 6-1c 中的 *I-V* 曲线，可以发现钙激活的钾电流的电压依赖性反映了钙电流的电压依赖性，这自然是由于需要钙进入而产生的，钙通过电压依赖性钙通道进入，而这对钾电流的激活起重要作用。当电压接近于 E_{Ca} 时，钙进入的驱动力减小，因此钙依赖性钾电流的激活也减少（其他的钙依赖性细胞内过程可能表现为类似的电压依赖性）。对细胞内钙的这种需求也解释了为什么通过去极化期间阻断钙进入可消除此电流。然而，通过钙的细胞内注入或用生理性处理引

起细胞内贮存钙释放，仍可诱发这种电流和其他钙依赖性细胞内事件（见第 11 章）。

电压钳制电流的动力学和药理学研究提示，可能存在着钙依赖性钾电流的一些**异源性**（hetergenity），但这种异源性的程度只是从单通道实验以及最近从我们将在本章稍后描述的分子克隆中才变得明显起来。许多细胞类型含有大电导的钙依赖性钾通道（所谓的**巨大通道**，maxi channel），但是也存在着较小的通道，甚至在大钾通道中也存在异源性。例如，在大鼠大脑胞浆膜标本中，至少存在两种可根据它们的门控动力学（图 6-6）和药理学加以分辨的独立的大通道。单一细胞中可能存在一种以上类型的钙依赖性钾通道是显而易见的，但这种异源性的功能意义仍待确定。由于钙依赖性钾电流（以

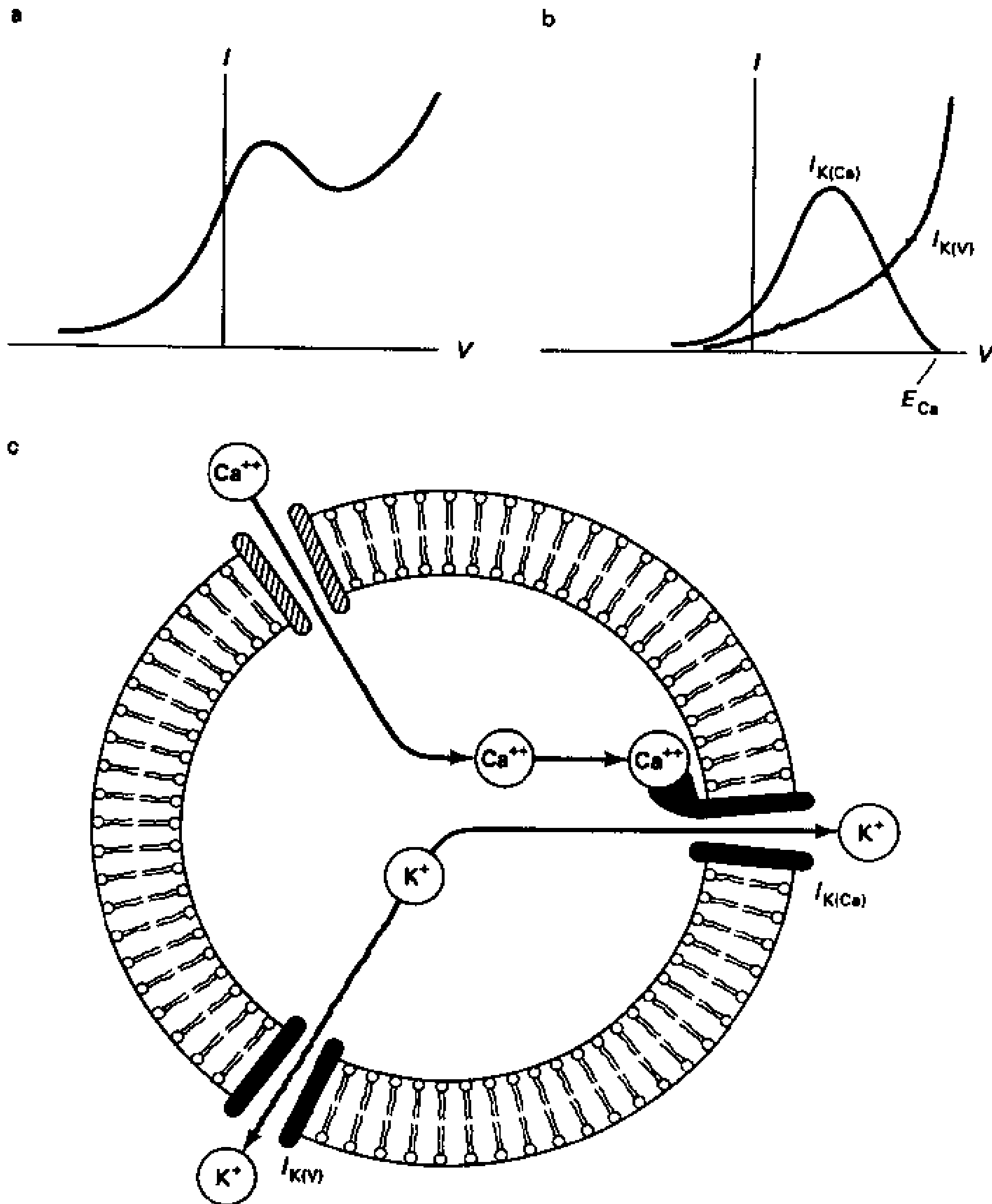


图 6-5 外向电流的不同成分。a：在大多数神经元的胞体中，当内向电流被阻断时，对外向电流的波峰而言，电流-电压关系具有特征性的 N 形态（见 Meech and Standen，1975）。b：外向电流的两种成分。c：图示说明两类钾通道的激活。

及延迟型整流器）有助于动作电位的复极化，并且对控制重复放电频率的峰电位间电流也起重要作用，因此不同的钙依赖性钾通道的不同动力学特性可能使得它们担负着性质不同的功能作用。

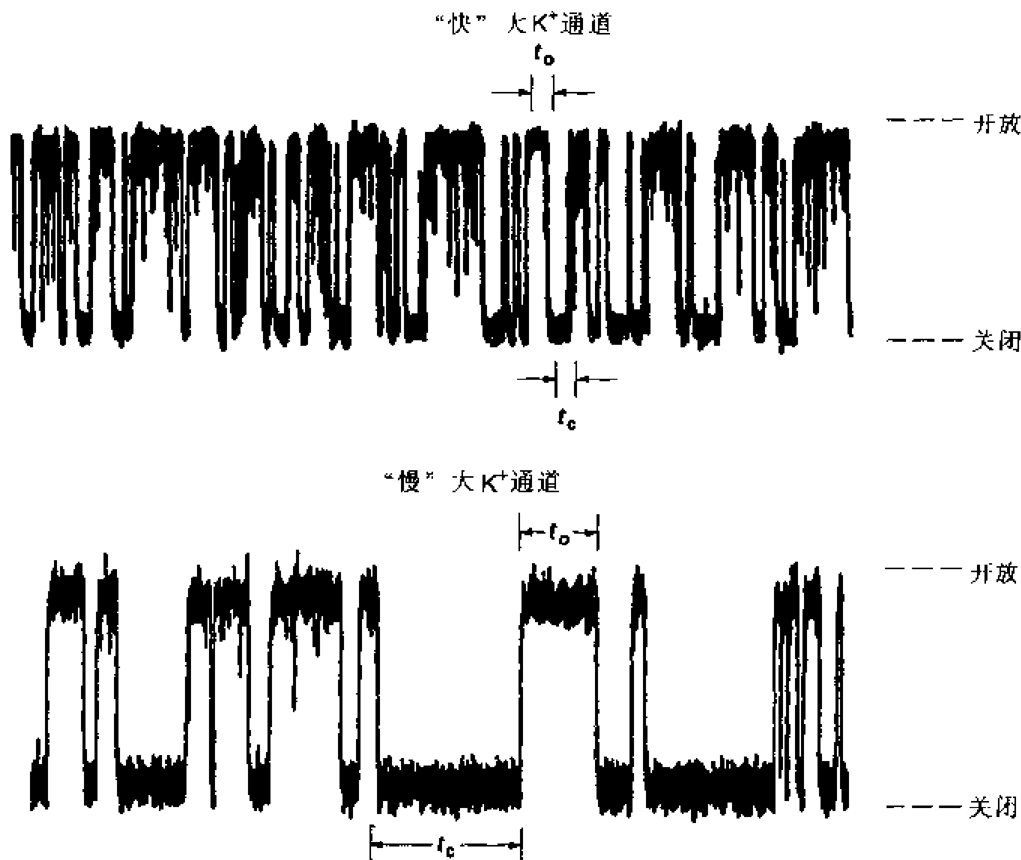


图6-6 不同类别的钙依赖性钾通道。在哺乳类动物大脑的胞浆膜片断中至少可以看到4种性质不同的钙依赖性钾通道。在此显示其中的两种。它们具有非常相似的单通道电导（240 pS），但在门控动力学方面是不同的（注意 t_o 和 t_c 的差异）。这些记录来源于重组入人工磷脂双层膜中的钙依赖性钾通道（参阅 Reinhart et al.，1989）。

瞬时钾电流　迄今我们已讨论了在长久的去极化脉冲期间即使有失活也是非常小的稳态钾电流。但也存在着通常以A电流著称的瞬时钾电流，它以一种类似钠电流的方式迅速地激活和随后失活。为了测定此电流，膜电位必须首先被设置到一个很负的钳制电位达数百毫秒，以便去除电压依赖性稳态失活（这使我们回忆起为检查钠电流失活和移除失活而设置的前脉冲，见图5-11）。当膜从很负的钳制电位发生去极化时，我们可以看到一个外向的A电流（图6-7a），尽管其时程较长，它仍然类似内向的钠电流（图5-4和5-9）。A电流失活的电压依赖性使有相对正的静息电位（比大约 −45 mV 更正）的神经元在静息电位 V_r 时便或多或少地完全失活了（图6-7b，与图5-11c相比较）。这就是为什么在这样的细胞中必须首先去除稳态失活才能检查这种电流。

A电流在膜电位的阈下区间是活动的，并在确定神经元重复放电的频率中发挥作用。尽管在接近静息电位时它基本上失活，并在动作电位期间完全失活，但失活的部分

被正常地跟随动作电位的**后超极化作用**（afterhyperpolarization）所消除。因此，A 电流在动作电位之后的短暂时间内是活动的，它减慢膜电位向动作电位阈值的归返。这反过来减慢了重复放电的神经元中的放电频率。

A 电流的另一作用是在兴奋性刺激和动作电位爆发之间允许产生一个延迟。这发生于具有相对负的静息电位的神经元中，在此神经元中几乎不存在稳态失活。当这种神经元去极化时，A 电流被激活并趋向于抵抗膜电位向阈值方向的变化。尽管 A 电流在去极化期间失活，但神经元开始更迅速地去极化。随着由失活动力学设置的延迟，神经元最终达到了阈值。在**海兔墨腺运动神经元**（*Aplysia* ink gland motor neurons）中发现了一个这样的例子，它被描述在图 3-12c 中。长时间的有害刺激引起了一个导致 A 电流进行性失活的去极化作用。只有当 A 电流遭受失活时神经元才能发放触发墨汁释放的动作电位。

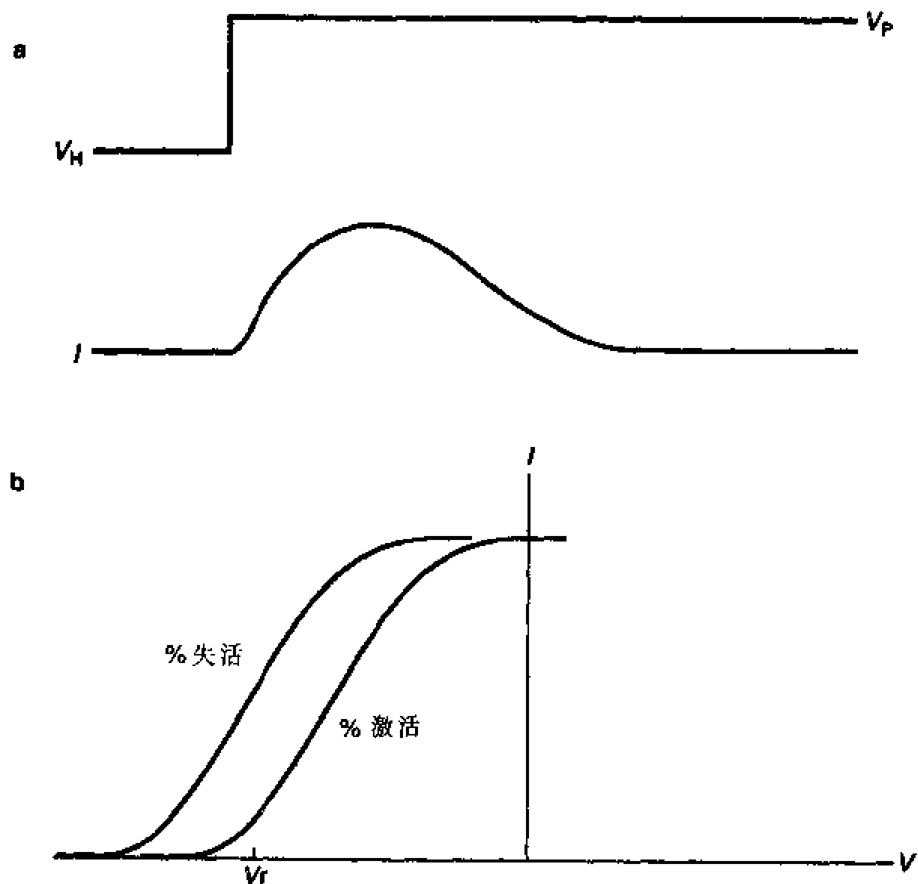


图 6-7　一个正在失活的钾电流。a：当膜由很负的钳制电位去极化时，可以观察到一个迅速失活着的钾电流。这种钾电流被命名为 A 电流。b：作为电压函数的 A 电流的激活和失活程度。

再者，电压钳制实验已证实在不同细胞中存在多种类型的 A 电流。虽然这在单通道水平尚未进行彻底研究，但分子生物学方法已经提供了这是由于不同种类的 A 电流通道所致的证据（将在下文详细讨论）。这些具有不同动力学特性和电压依赖性的独特的 A 电流通道，以不同的方式对神经元放电速率的调节起重要作用。

由超极化作用激活的钾电流　迄今我们所讨论的所有内向和外向电流均由去极化作用所激活，这可能是因为通过电压直接门控，或者是因为去极化诱导的钙内流是激活它们所必需的因素，或二者兼而有之。这就在 *I-V* 关系中产生了整流，即曲线的斜率在去极化方向上增大。然而，在许多细胞中还存在一种由超极化激活的钾电流。这就使 *I-V* 曲线的斜率在去极化方向上引起一个下降（图 6-8），这是一种称之为**异常**或**内向整流**（anomalous or inward rectification）的现象。

这一切似乎相当奇怪。为什么细胞仅被内向钾电流通过的通道而不被外向钾电流通过的通道打扰呢？当我们回忆起由于钾是具有最负反转电位的电荷载体，因而在正常情况下神经元的 V_m 永远不会比 E_K 更负时，这个问题变得特别紧迫了。因此只有在通过电压钳制施加人为的超极化作用的条件下，钾的内向流动才能发生。当我们认识到异常整流钾通道并不是完善的整流器，并且在从 E_K 去极化约达 30 mV 的电压范围内能够允许一些外向电流通过时（图 6-8），一个有关这种异常整流钾通道作用的思路产生了。尽管这种电流总量并不大，但很少有其他膜电流在此电压范围内是活动的，因此，这种电流在调节神经元活动的静息水平上可能起着重要作用。内向整流钾通道受复杂形式的调制，而我们将在第 11 章中讨论它们的分子结构。

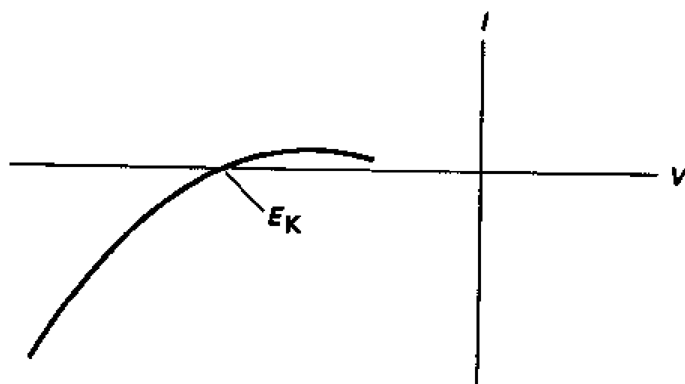


图 6-8　超极化激活的钾电流。内向整流型钾电流的电流-电压关系，显示去极化倾斜电导的降低。

其他钾通道　尽管以上对主要类别的电压依赖性钾通道进行了描述，但我们仍没有将钾通道的全体成员挖掘出来。还存在着由**配体**（ligand）或细胞内代谢物所门控的其他通道，而我们已经强调过其中的某些通道也表现出电压依赖性。这些其他的通道包括所谓的 M 电流和 S 电流钾通道，它们的活动分别受神经递质**毒蕈碱**（muscarine）（M 电流）和 **5-羟色胺**（serotonin）（S 电流）的调制。我们将在随后的章节中描述这些电流对重要生理现象起作用的方式。尚待回答的基本问题是为什么神经元膜对单一离子，即钾离子需要这样多的性质不同的传导通道呢？而这些性质不同的通路又是如何演变的呢？我们将了解到通过不同分子机制的**遗传扩散**（genetic divergence）产生了具有不同性质的钾通道家族。当有机体要求它们的神经元产生的放电模式的类型增加多样性和灵活性时，演变就产生了。

突变的苍蝇和对钾通道的探索

和钠及钙通道的情形相对比，由于缺乏丰富的蛋白质来源使得钾通道的纯化极为困难。因为缺乏纯化蛋白质的序列信息，要通过序列的同源性进行分子克隆是不可能的，这就要求另一种解决的方法。对钾通道而言，这种方法已经通过对突变果蝇的研究而获得。

果蝇（*Drosophila melanagaster*）是多年来基础研究的宝贵资源。在本书稍后，我们将看到最近它是如何提供了洞察神经元发育和学习机制的例子。为了仔细地检查这些生物中的其中一只果蝇，必须要用乙醚进行麻醉（否则的话它将要飞跑）。但是在麻醉下偶尔可见某只果蝇不像健康的果蝇那样入睡得好，而是其小腿、翅膀和腹部都发生颤动（图 6-9a）。业已明了这是由于某些特定基因发生突变的缘故，现在已经繁殖了表现这种行为的突变果蝇的许多族系。在这些突变果蝇的族系中有若干个在一个特殊的基因，即名为"**颤动子基因座**"（*Shaker* locus）的 DNA 片段上有缺陷。

颤动子位点编码电压依赖性钾通道　在**颤动子苍蝇**（*Shaker* flies）的巨大轴突纤维中可以记录到反常的长时程动作电位（图 6-9b）。应该注意形容词"巨大"只是一个相对的术语；整个苍蝇仅轻轻地挤压就可以和枪乌贼的巨轴突相当。当巨大纤维中这些延长的动作电位到达神经肌肉接点时，它们便引起递质释放显著的延长，肌肉收缩也延长并发生颤动。钾 A 电流实质上对这些轴突中的动作电位的复极化起重要作用，在某些**颤动子**苍蝇中的这种缺陷表现出是由于 A 电流完全丢失的结果（图 6-9c），但并不是**颤动子**位点内所有的突变都引起 A 电流的完全丧失。某些突变只改变电流的振幅或动力学反应。这样的现象就提出了**颤动子**位点可能含有编码 A 电流通道的基因。

果蝇的一个重要优点是可得到在其 4 个染色体中的每一个染色体上面有小间距标志的精细的基因地形图，这样就可能确定某个突变的相对位置（如**颤动子**），并且可鉴别包括突变位点的 DNA 克隆片段。当尚未获得蛋白质序列时，这种**定位克隆**（positional cloning）提供了不同于**同源筛选克隆**（homology screen cloning）的另一种方法（见第 4 章）。鉴别由**颤动子**位点编码的蛋白质序列已证明是一个很困难的任务，花费了数年时间才确定了围绕着此位点的 DNA 的特征。当最终知道了长期寻找的序列时，发现其具有某些相当显著的特征。

由**颤动子**位点编码的蛋白质的第一个引人注意的特征是它们只具有我们上述的钠或钙通道大小的 1/4。该蛋白质仅含有一个结构域，由 6 个跨膜部分 S1～S6 所组成（图 6-10）。这些蛋白质能够形成功能性钾通道的证据是来自这样的发现，即正常 A 型钾电流能够在用编码 Shaker 蛋白的 RNA 注入的卵母细胞中表达出来（图 6-10）。

选择性剪切产生不同的颤动子产物　第二个显著的特点是从来源于颤动子位点的 RNA 可以产生不只一种类型的通道（图 6-10）。编码通道的 DNA 并不是连续地经过此位点，而是编码蛋白质的区域（名为**外显子**，exons）与 DNA 非编码区（名之为**内含子**，introns）分开。因为 RNA 是由此 DNA 合成的，它开始时包括这些非编码的内含

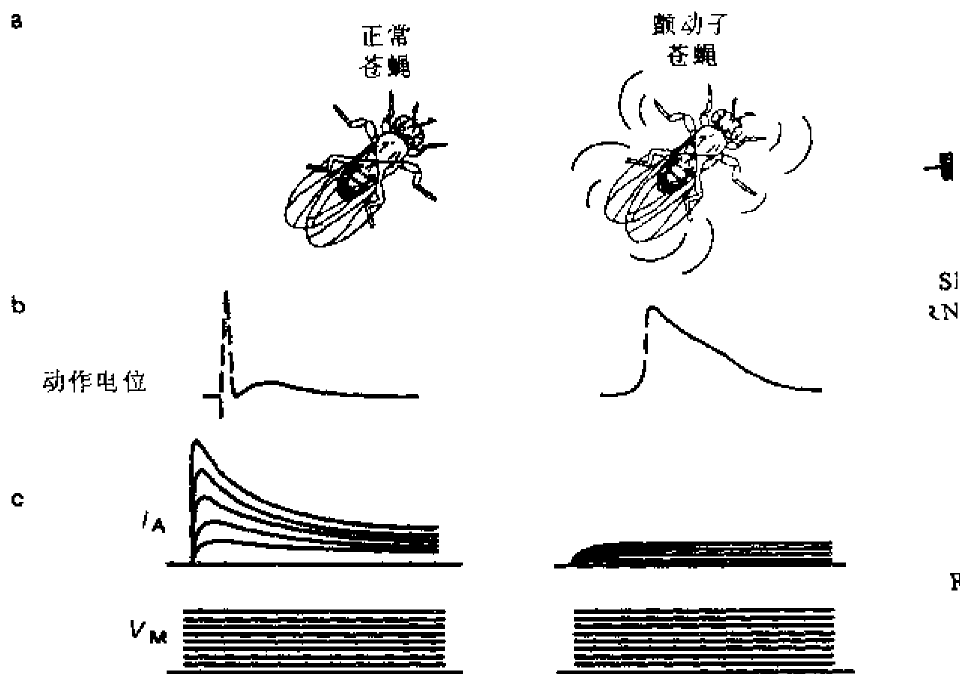


图 6-9 颤动子突变，在正常和颤动子苍蝇（a）中的动作电位（b）和钾电流（c）（引自 Mark Tanouye, Larry Salkoff, Bob Wyman 及其同事的工作）。

子。在编码蛋白质的成熟信使 RNA 生成期间，内含子被摘除，外显子被剪切拼合
在**颤动子**位点中，存在着能对通道蛋白质的羧基端和氨基端区域**交替性**编码的若
的区域（图 6-10）。所以不同形式的 RNA 切割和剪接能够产生具有同样序列中
的通道，这些区域含有大部分的疏水区，但是它们在其羧基或氨基末端上具有不
列。图 6-10 表示两种颤动子蛋白的产生，名之为 ShA 和 ShB。这两种蛋白质在
末端有着相同的序列，但在第 5 疏水区以后则有差异。

由颤动子位点构成的不同蛋白质事实上确实产生了具有不同电性质的通道。
10 下部表明了注入编码 ShA 和 ShB 的信使 RNA 以后，在卵母细胞中记录到的电流
子膜的去极化反应，ShA 和 ShB 通道均发生激活，然后在继续维持去极化作用时失
活。但是 ShB 失活的速率比 ShA 要快得多（图 6-10）。我们在本章开始部分简要地
过这样的事实，即选择性剪接对于钙通道的功能多样性也是一个起主要作用的因素

除了 ShA 和 ShB 以外，还存在着具有不同氨基和羧基末端区的若干其他颤动
接的变异体。虽然所有这些产生了 A 电流类型的瞬时钾电流，但是它们的激活和失
速率实质上是不同的（正如我们以下将要看到的，引起一种失活过程的分子结构现
经了解）。并且由诱发突变的实验也知道，4 个颤动子亚单位在膜中结合在一起形
与钠和钙通道 α-亚单位相类似的结构。换句话说，钾通道是功能性的**四聚体**
tramers）（图 6-11），也还存在着异四聚体，在异四聚体中 ShA 和 ShB 交互作用形
同四聚体通道不同功能性质的异四聚体复合物。

在涵盖从**果蝇**到人类的生物中，通过具有**颤动子**的同源序列，现在已经鉴定出
两打编码电压依赖性钾通道的其他基因。其中某些密切相关联的蛋白质产生延迟整流
钾 通道，而不是迅速失活的A电流。实际上看来存在着一系列具有不同功能性质的

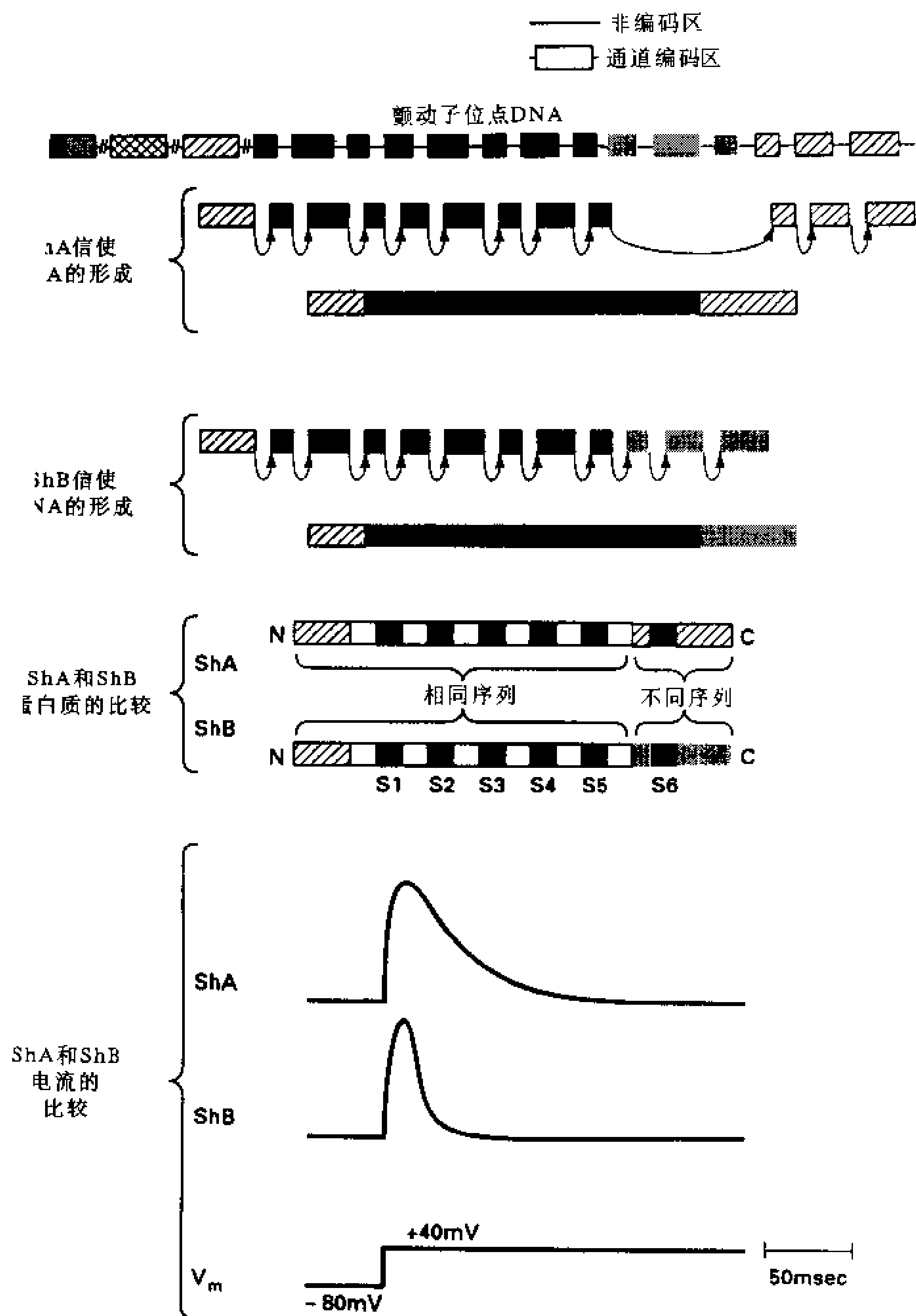


图 6-10 由几个不同的实验室大约同时克隆的颤动子位点中的选择性剪接。Lily 和 Yuh Nung Jan 及其同事证明，从这些位点转录的 RNA 能对若干不同的颤动子蛋白质中的一个进行编码，包括颤动子 A（ShA）和颤动子 B（ShB）（依 Schwarz et al.，1988）。

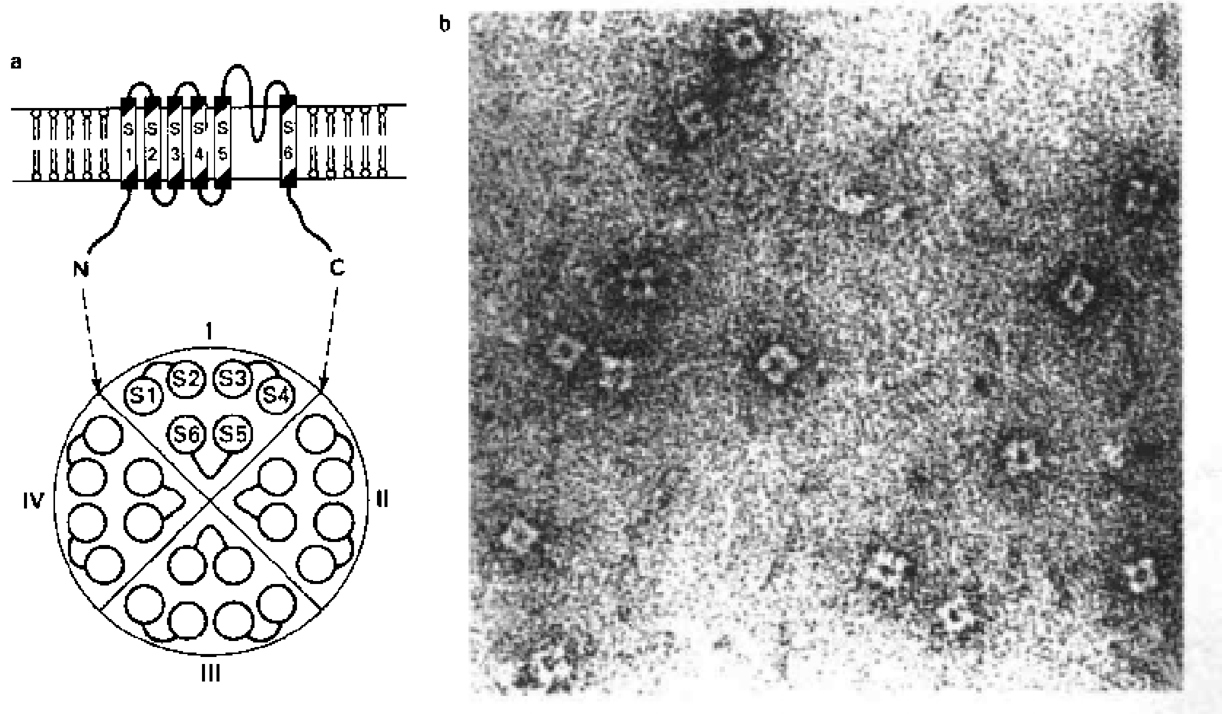


图 6-11 钾通道是功能性四聚体。a：如同钠和钙通道的各个结构域一样，电压门控性钾通道的每一亚单位，据认为具有 6 个跨膜区（S1—S6）（见图 4-10）。四个亚单位（I—IV）集合在一起形成功能性通道。修改自 Ranganathan (1994)。b：用电子显微镜观察的纯化颤动子蛋白。注意明显的四边对称性。显微照片由 Nigel Unwin 惠赠（见 Li et al.，1994）。

压依赖性钾通道类型，全都属于在结构上紧密相关的蛋白质家族。虽然不是所有的**颤动子样**基因（*Shaker*-like genes）都是按照**颤动子**位点的方式产生多种蛋白质产物，但是十分明显，正如在钙通道的情况那样，钾通道的多样性比由电生理学研究所提出的要多得多。

Slopoke 位点编码钙依赖性钾通道

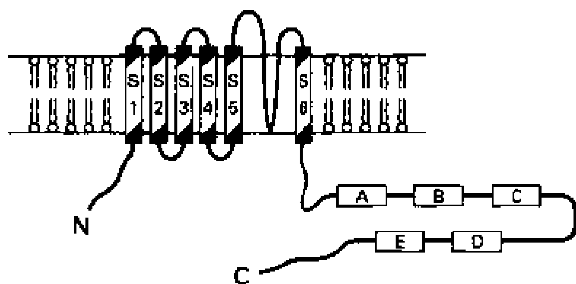


图 6-12 从果蝇克隆的 *Slopoke* 钙依赖性钾通道。除了电压依赖性钾通道也含有的 6 个跨膜区（S1—S6）外，*Slopoke* 具有可能完全位于胞浆内的很长的羧基末端，也可能跨越膜若干次。标记有 A 到 E 的小方块表示不同剪接变异体中的氨基酸片段不同。（改自 Adelman et al.，1992）。

一旦了解了**颤动子**（*Shaker*）的特征，应用颤动子序列的同源克隆，便可揭示以上所描述的大量和日益增加的电压依赖性钾通道家族。但是这种方法并不能阐明钙依赖性钾通道的分子结构，因为该通道的活动是取决于膜电压和细胞内自由钙浓度两方面（图 6-6）。在这里**果蝇**再一次发挥了作用。现在了解，存在着**果蝇**的突变体，叫做 ***Slopoke***，它的神经元和肌肉细胞中缺乏钙依赖性钾电流。*Slopoke* 基因位点的定位克隆揭示钙依赖性钾通道的许多结构特征为颤动子基因家族亲系所共有，但它们也是有差别的（图 6-12）。*Slopoke* cDNA 的序列预示此蛋白质

像颤动子（图 6-11）一样具有 6 个跨膜区，并和钠及钙通道的 4 个同源结构域中的一个相类似（图 4-10）。但是在跨膜区 S_6 末端以后不是立刻终止，*Slopoke* 附加有一个长的构成大约三分之二通道蛋白的氨基酸片段（图 6-12）。这一部分通道蛋白的功能意义尚未完全清楚，但是推测它含有使通道活动具有钙敏感性的序列。

像颤动子一样，*Slopoke* 信使 RNA 可进行选择性剪接产生许多不同的基因产物。实际上，对 *Slopoke* 而言，这一数量是非常大的。它的序列预测由单一 *Slopoke* 基因可能产生总数为 144 个可能的剪接变异体（图 6-12）。此外，正如颤动子那样，功能性钙依赖性钾通道是由 4 个 Slopoke 亚单位的复合物形成的。所以由这一个基因衍生而能形成的通道总数是 144^4（几乎达 430 000 000 个）！虽然还不知道神经元中实际上存在有多少种通道，而且只详细分析了很少量的剪接变异体，但是功能异质性通道的可能性简直是惊人的。

电压依赖性离子通道中结构和功能的关系

很自然，利用编码一种离子通道的 cDNA 可能提供关于通道氨基酸序列的信息，并允许人们按我们以上和第 4 章中所描述的方法推断通道结构。正如在第 4 章中所简短叙述的，它也提供了进行定点突变的可能性，以鉴别对特定通道功能起重要作用的通道蛋白区域和特异氨基酸。但是要提请注意的是，定点突变把**序列**（sequence）与通道功能联系起来，而不是把**结构**（structure）与通道功能联系起来。我们只能从序列的信息中**推论**（infer）结构，当可以得到真正的三维结构材料时，必定要修正我们关于通道结构的卡通图像。在第 10 章中，我们可以看到在烟碱型乙酰胆碱受体通道的例子中确实有必要这样做，因为确实已存在该受体通道的结构数据。

尽管存在这样的警告，但是定位突变却已提供了关于电压依赖性钠、钙和钾通道的有用信息。现在已经完成了许多这样的突变实验，由一种通道所得出的某些结果，对于其中所有的三种通道也是适用的。作为这种方法的例子，我们将集中阐述确定通道序列特征的三组研究上，这些通道序列参与电压依赖性离子通道的电压依赖性激活、离子导通和选择性、以及迅速失活。

门控电流和电压感受器　　很明显，通道在应答跨细胞膜电压变化的反应中，必定含有能够作为电压感受器而起作用的，以及当改变跨膜电压时确实可以移动的某些荷电结构。这样进一步可以触发允许离子通道开放和关闭的蛋白质进行重构。电压感受器上的电荷称之为**门控电荷**（gating charge）。

在电压改变后瞬间，离子通道蛋白内的门控电荷的运动本身可产生跨膜电流。这一**门控电流**（gating currents）比离子流经通道的电流要小得多。此外，它是非常短暂的。门控电流只有当通道蛋白正经历到一个新的构象改变时才可进行流动，而且可发生的非常迅速。另一方面离子电流只有在蛋白质的新构象完成以后才开始流动（图 6-13a）。在枪乌贼巨轴突和某些其他的标本中业已能够测定钠和钾通道的门控电流（图 6-13b）。要进行这一测定工作，首先必须应用药物或通过电子高科技消除经过离子通道跨脂膜流动的巨大的离子电流。在这样条件下所能记录到的电荷运动和预期的控制离子经过通道

进出的物理性“门”的移动大致相符。但是并不是完全吻合，因为在离子通道蛋白内并不是每个电荷的运动都直接导致通道的开放和关闭（图 6-13c)。

电压依赖性离子通道的 S4 区是电压感受器的首要竞争者，图 6-14a 显示该区的氨基酸片段含有重复的碱性氨基酸残基，即每隔两个氨基酸就有一个精氨酸或赖氨酸。如果 S4 区在膜中形成 α-螺旋的话，那么这些正电荷的残基围绕着螺旋形成一个盘旋形状，

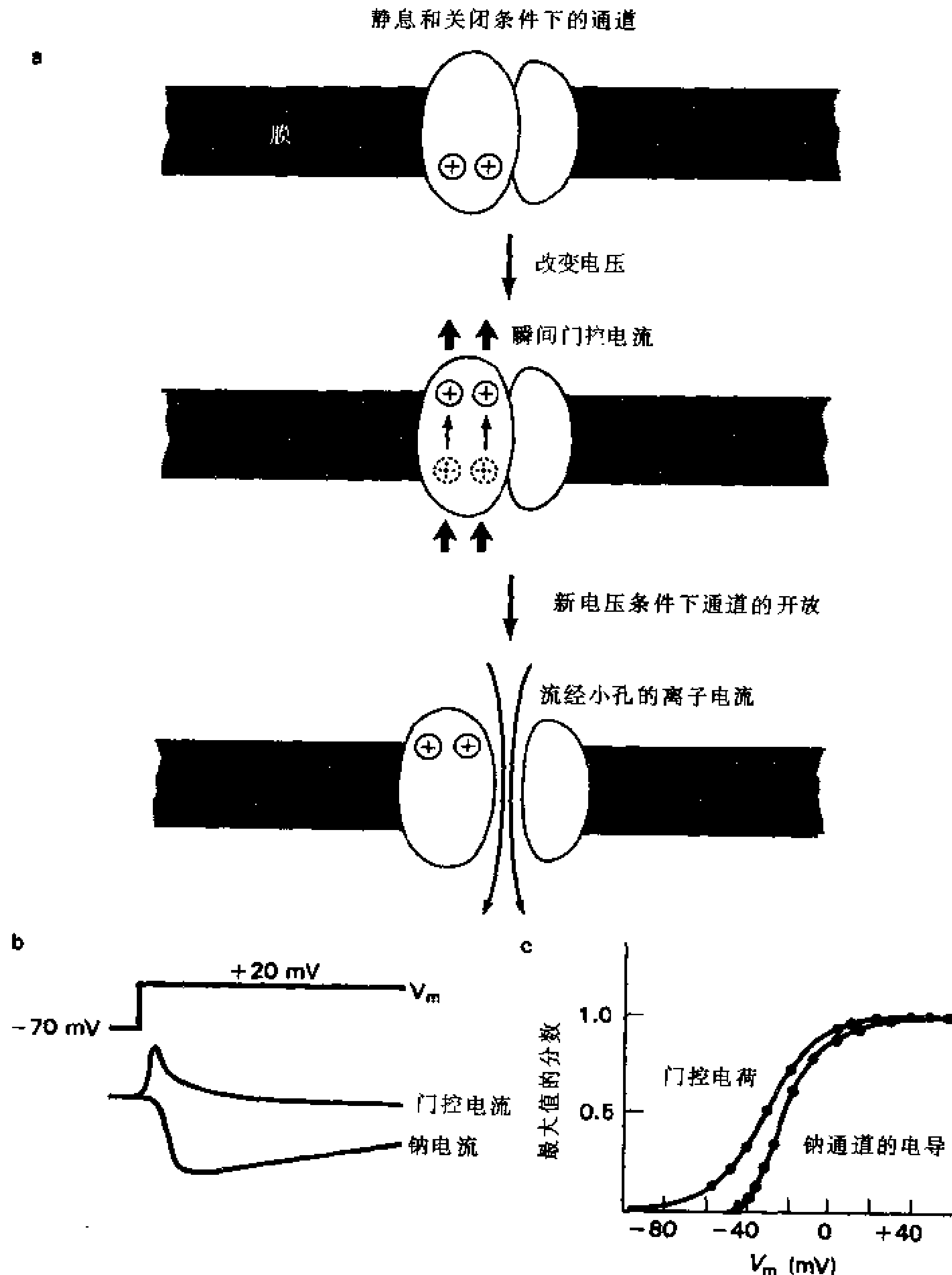


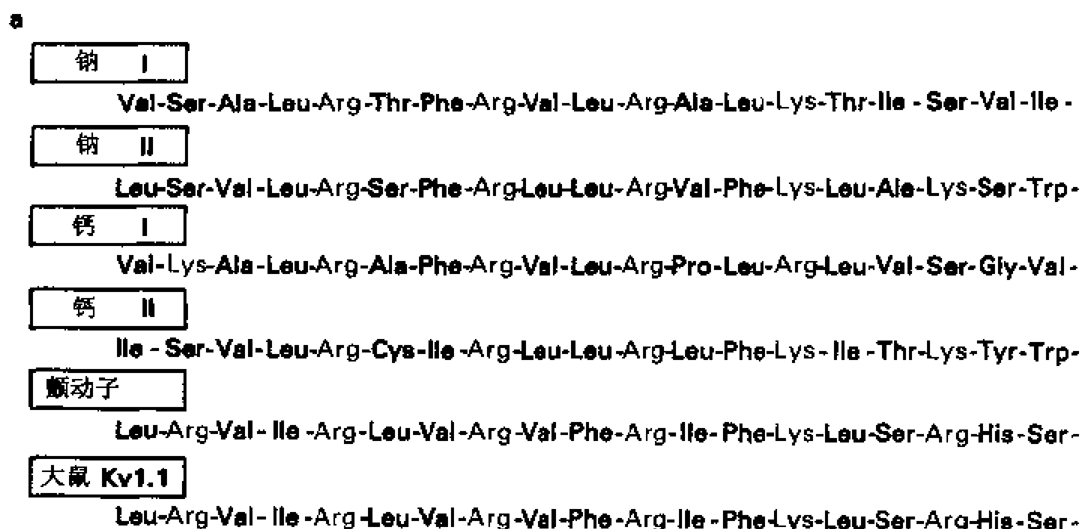
图 6-13 门控电流。a：在电压改变以后离子通道蛋白中由电荷所致的门控电流的产生。b：电压跃变以后，门电流先于离子电流。c：轴突中门控电荷运动的电压依赖性与钠通道电导的电压依赖性的比较［这一论题在 Armstrong (1981) 的综述中有进一步论述］。

如图 6-14b 所示。这些正电荷的残基可能受位于邻近螺旋的负电荷的氨基酸，如**天门冬氨酸**（aspartate）或**谷氨酸**（glutamate）作用而稳定化。有人提出假设，跨 α-螺旋电场中的变化，诸如当膜去极化时所发生的，会导致正电荷残基与它们的配对失偶联，继之以螺旋移位或旋转。这将引起朝着施加电场的方向的电荷运动，并建立起一个新的平衡构象。

已可能建构一些突变体通道，在这些通道中，S4 区中的正电荷的氨基酸被中性或负电荷氨基酸所代替。对钠和钾通道来说都已经实现了这种突变体通道。当这种突变体通道被**异源**（heterologonsly）地表达时，其被激活的电压依赖性则与**野生型通道**（wild-type channels）的电压依赖性不同，这与 S4 区是膜电压感受器的观点一致。此外，应用在化学上与专一氨基酸交互作用的试剂所进行的一些精巧实验，已经提供了这样的证据，当改变跨膜电压时，S4 区确实在膜内移动。

通道快速失活的球和链机制　　通道的什么结构对电压依赖性离子通道的失活起作用呢？由 Clay Armstrong 和 Francisco Bezanilla 在 20 世纪 70 年代所进行的经典实验证明，一方面是激活/去激活，另一方面是失活，它们必定涉及通道蛋白质的不同部分。他们应用一种蛋白水解酶的异源性混合物，**链霉蛋白酶**（pronase）灌注枪乌贼巨轴突的内侧部分时发现，这样的处理可以消除失活，但不影响轴突钠电流的激活/去激活（图 6-15a）。这个实验明确地证明了担负失活的通道成分，所谓的**失活门**（inactivation gate），必定是从膜的胞浆面可以到达的蛋白质结构域。这个实验也证明了，激活/去激活门是不能从胞浆侧和链霉蛋白酶相接近的，因此这必定涉及蛋白质的不同结构域。这种现象有助于使我们对钠通道是如何进行工作的构想具体化（例如在图 5-10 所看到的卡通图像中门的位置），这种现象使 Armstrong 和 Bezanilla 提出了钠通道失活的**球和链**（ball-and-chain）的模型（图 6-15b）。根据此模式图，失活门（球）是通道蛋白的一部分，通过另一条氨基酸片段（链）栓在通道的余留部分。当通道活动时，电流流经开放的通道，直至球阻滞其内口为止，因此，失活是通道阻滞的特殊形式（图 6-15b；可与图 5-10 相比较）。

Richard Aldrich 及其同事在 1990 年完成的一系列精巧实验中证明，球和链模型精确地描述了爪蟾（*Xenopus*）卵母细胞中表达的振动子钾通道的迅速失活。他们首先将**胰蛋白酶**（trypsin），一种更专一的蛋白水解酶，施加到含有振动子通道的分离膜片的胞浆面，发现可以使失活迅速消失，这与枪乌贼轴突钠通道较早期的链霉蛋白酶的实验结果一致。然后他们使振动子突变，从蛋白质的氨基端切除 20 个氨基酸，发现引起通道正常地激活，但不发生失活（图 6-15c），因此提出氨基末端的区域形成了球。将球和 S1 区相连的蛋白质部分缩短或增长便改变了通道失活的速率，这一结果与这部分构成链的想法是一致的。最后当在卵母细胞中表达出突变的振动子时，即缺少 20 个末端的氨基酸（因此是不失活的），如果将在序列上与这 20 个氨基酸相应的合成肽，加到分离的膜片的胞浆面时，则可以使此通道阻滞（图 6-15c）。总起来看，这些实验提供了强有力的证据，即钾通道的迅速失活是由于栓有链条的阻滞粒子使通道发生阻滞造成的。他们也强调了精心设计的分子突变诱发实验，在把特异性通道功能归因于通道蛋白的特殊部分方面有着强有力的说服力。有趣的是并不是氨基末端担负着克隆的钠通道的迅速失活。



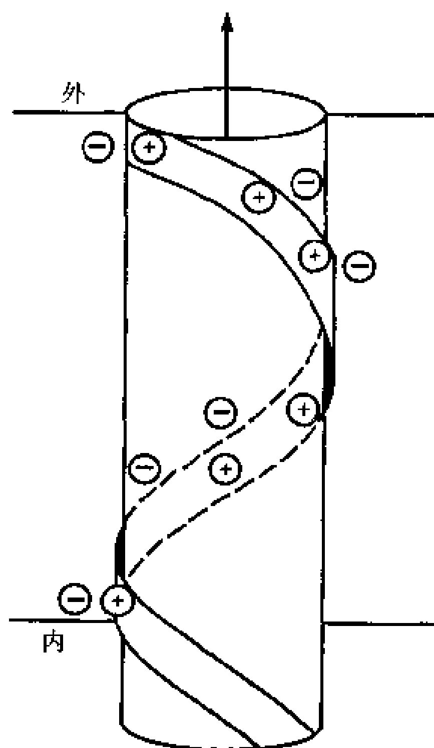


图 6-14 S4 区。a：在钠和钙通道的结构域 I 和结构域 II 中的 S4 区的氨基酸序列，以及在两个电压依赖性钾通道 Shaker A 和 Kv1.1 中的 S4 区的氨基酸序列。b：在跨越膜的螺旋中、S4 区内碱性残基的可能排列。（改自 Catterall，1986）。

而是经突变诱发实验证明位于第 3 和第 4 同源通道结构域之间的细胞内环，对于失活才是关键性的（见图 4-12），这可能是比经典的球和链模型更为复杂的一种机制。

钾通道的两种失活 颤动子的这种球和链的失活称之为 **N 型**失活，它反映了这种失活与通道蛋白氨基末端有关的事实。回想一下，延迟整流型钾通道并未表现出由颤

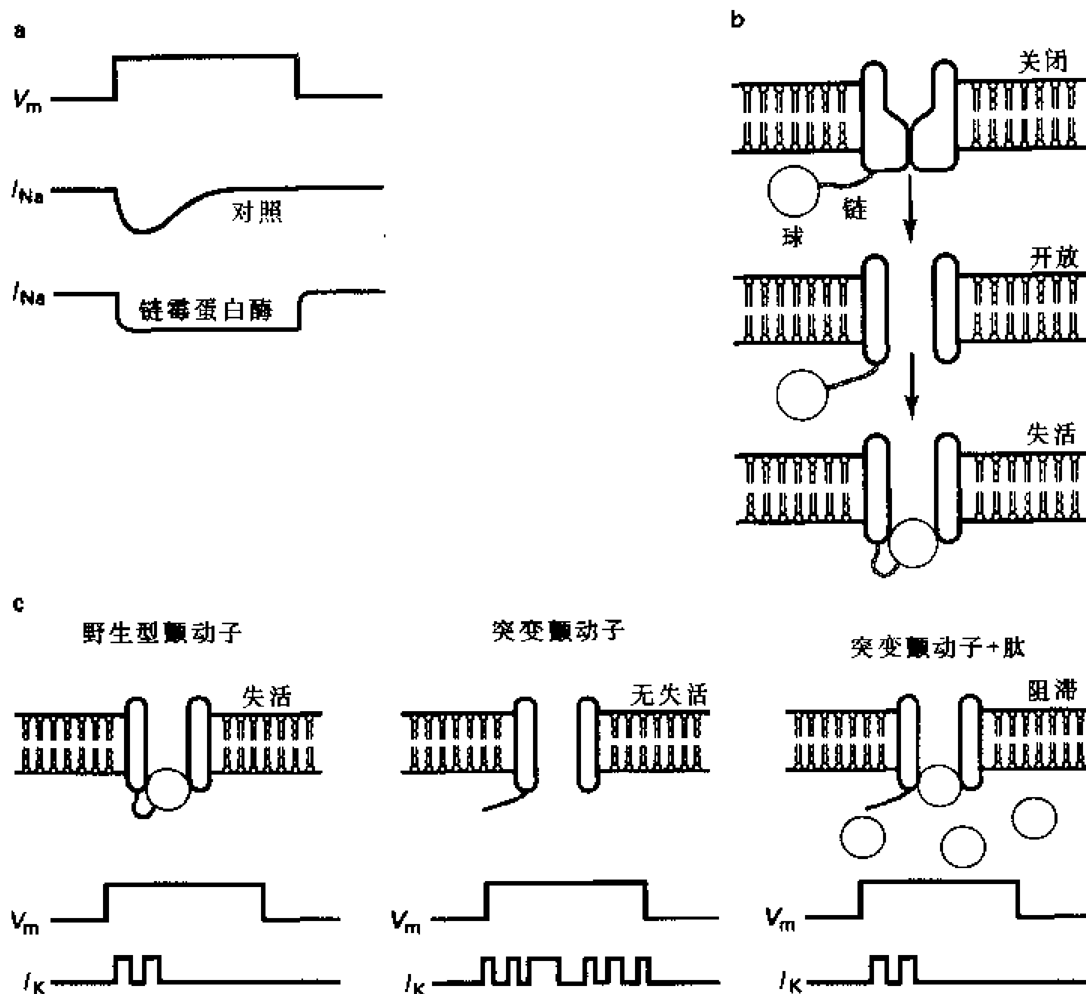


图6-15 钠和钾通道失活的球和链模型。a：在链霉蛋白酶处理前和处理后钠通道的失活。b：失活是由于部分通道蛋白质阻滞开放通道的所产生的。c：通过突变移除颤动子氨基末端的20个氨基酸则迅速失活。突变的颤动子的失活可以通过应用合成的肽加到通道的胞浆侧而恢复，这种合成肽的序列是与氨基末端的20个氨基酸相一致的。

动子所表现的迅速失活。现在很明显，从cDNA的序列比较来看，延迟整流型在多数方面与颤动子相似，仅仅是缺乏球和链。当与颤动子球和链相应的序列被加到诱发突变的延迟整流钾通道的氨基末端时，它就变成为具有N型失活的A电流型的通道。此外，合成的球肽能够阻滞延迟整流型通道，甚至阻滞钙依赖性钾通道，因此提出在起着球受体作用的通道口部位，它们与颤动子有同样的序列。

全部电压依赖性钾通道在延长的去极化脉冲期间都表现为非常缓慢的失活形式，称之为**C型**失活，在某些方面它与N型是有区别的，因为这涉及到靠近羧基端（以及其他区域）的序列。N型和C型失活在机械性质上是不同的，从诱发突变实验来看，现在很清楚C型失活涉及通道蛋白很大的区域，而且可能比N型失活的简单阻滞特征需要在离子通道构象方面有更大的整体变化。C型失活在调节神经元放电速率方面起着重要的作用。显而易见所有电压依赖性钾通道，包括经突变去除N型失活后的颤动子通道，均表现有C型失活。相反，N型失活却只限于颤动子及其少数同类的通道。

通道小孔　　把功能归因于个别通道序列的另一个明显的例子，是对电压依赖性钾通道中形成离子选择性传导小孔的区域的确证。诱发突变实验已经证明，**蝎毒素**（chary bdotoxin）是某些钾通道外孔的阻滞剂，它与颤动子的跨膜节段 S5 和 S6 之间区域中的氨基酸相互作用（图 6-16a）。现在也已清楚 S5—S6 连接序列必定是跨膜的，因为在这个连接序列中的某些氨基酸受应用于**内侧**（图 6-16a）的钾通道阻滞剂 TEA 的影响（见图 5-9）。这一发现出人意料，因为根据疏水性图谱，S5—S6 连接序列原本被认为是细胞外环；这再一次提醒人们，我们关于通道结构的卡通图，需要根据实际的数据修正。

S5—S6 连接序列（现在叫做 P 结构域）对通道小孔起重要作用的进一步证据，是从该区突变能改变颤动子通道的离子选择性和传导性质得来的。最后，将具有不同传导性质的两种不同钾通道的 P 结构域进行交换时，所产生的**嵌合体通道**（chimeric channels）的单通道电流的大小，是由小的 P 结构域决定的，而不是由仍然保持未变的大约有 500 个氨基酸的较大的通道序列所决定的（图 6-16b，c，d）。这个实验提供了异常明确的证据，即 P 结构域在钾通道导通和选择性方面起着关键性的作用。

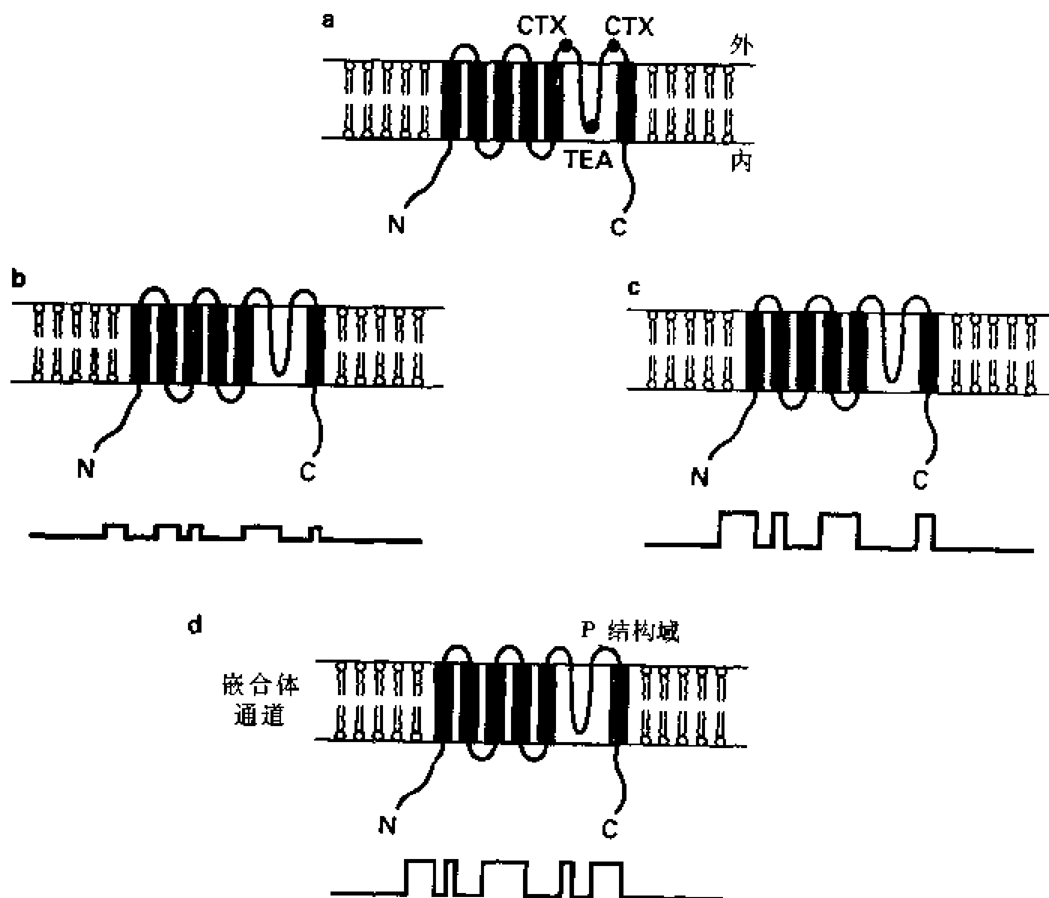


图 6-16　钾通道的小孔结构域。a：氨基酸对从通道内侧结合孔道阻滞剂 TEA 和从外侧结合 charybdotoxin（CTE）是关键性的。b-d：跨越膜的 S5 和 S6 节段之间的区域对于嵌合体通道的导通与选择性很重要。

辅助性亚单位对电压依赖性离子通道功能多样性的作用

以前我们已经提到这样的事实，仅仅 α 亚单位 cDNA 即可在卵母细胞或细胞系中表达功能性的钙通道和钠通道，但是，当从生物膜纯化这些通道蛋白时，辅助性亚单位也随着 α 亚单位一同被纯化出来。钾通道蛋白很难纯化，但是钾通道的 β 亚单位已被纯化并克隆。现在已很清楚，辅助性亚单位结合并调制 α 亚单位的功能特性。正如图 4-11 中的钠通道所表明的，钾、钠和钙通道的共同的特征是当 β 亚单位和 α 亚单位协同表达时，β 亚单位提高了失活的速率。特别有趣的是延迟整流型钾通道，它的 α 亚单位只表现 C 型而不是 N 型失活，当 α 亚单位和 β 亚单位一同表达时，这个通道就和迅速失活的 A 电流型通道相类似。因此，辅助性亚单位的存在扩大了由多种通道基因、选择性剪接，以及**异四聚体钾通道**（heterotetrameric potassium channels）所形成的已经给人深刻印象的功能多样性。

小结

电压钳制和膜片钳技术已经揭示了流经电压-依赖性钠、钙和钾通道离子电流的异质性。通道分子生物学的进展已经很清楚地表明，离子通道的多样性比从这些电生理学的测定所推测的更多。这种多样性是通过若干不同的机制实现的。这些机制包括离子通道主要亚单位的多种基因的存在，从每一单个基因转录的信使 RNA 的选择性剪接，钾通道的不同主要亚单位的异四聚体的形成，以及本身就形成很大家族的辅助亚单位对通道性质的调制。

尽管有这种多样性，但是三种主要类别的电压依赖性离子通道，在分子生物学中也存在着明显的相似性。据预测，所有的通道都具有 24 个跨膜区，以及构成通道小孔的一个结构域。在钠和钙通道中，由单一主要亚单位就可形成完整的通道结构，此主要亚单位含有 4 个同源结构域，每一结构域具有 6 个跨膜区。相反，钾通道的亚单位则小得多，只类似于钠和钙通道中 4 个同源结构域中的一个。4 个这样的主要亚单位结合在一起形成功能性的钾通道。分子诱变实验揭示了涉及电压依赖性激活、失活，以及离子选择性这些功能的通道蛋白序列。从这些实验中得出一个有趣的发现是，至少电压依赖性通道的某些功能并不涉及蛋白质构象的总体变化，但只是通道蛋白质中部分离散的结构组件发生了变化。

第三篇

细胞间通讯

本书前一部分阐述了那些将信号从神经元的某一部分传递到另一部分的膜特化结构。下面的七章将要着重描述神经系统功能的另一基本方面，即**细胞间信号传导**（intercellular signaling）。这包括神经元与其他神经元以及与外部环境通讯的机理。第 7 章比较了神经元间通讯的两种截然不同的方式。第一种方式是通过**电突触**（electrical synapse）（**缝隙连接，**gap junctions）将离子和小分子从一个神经元直接转移到另一个神经元。第二种方式是细胞释放或分泌一些化学物质，即**神经激素**（neurohormone）或**神经递质**（neurotransmitter），经扩散而影响其靶细胞的活动。分泌细胞与靶细胞的细胞膜常常在称作**化学突触**（chemical synapse）的高度特化的结构处紧紧相邻。正如在第 8 章中描述的，神经递质在化学突触处释放的机理，从对两类高度特化的突触——脊椎动物的**神经肌肉突触**（nerve-muscle synapse）和枪乌贼星状节的所谓**巨突触**（giant synapse）——的研究中了解得最清楚。在神经系统中已发现种类繁多的神经递质和神经激素，它们的合成和代谢的详情将在第 9 章阐述。随后两章将描述神经递质和神经激素**受体**（receptor）。这些受体是特化的膜蛋白，它们能识别并结合信号传递分子，从而将细胞外的化学信号**转导**为靶细胞的一种电反应。信号转导有两类完全不同的方式。第 10 章讨论了受体的结合位点是构成离子通道的同一个分子或大分子复合物的一部分，这些离子通道的活性由神经递质调节——即**直接受体/离子通道偶联**（direct receptor/ion channel coupling）系统。与此相反，第 11 章描述了**间接受体/离子通道偶联**（indirect receptor/ion channel coupling）系统，当神经递质与受体结合后，引起一连串的生物化学活动，最终导致与受体无直接联系的离子通道活性的改变。第 12 章阐述了**神经调控**（neuromodulation）的概念，即神经递质或神经激素作用后导致的神经元电特性的长时程改变及其细胞内生化机制。最后，在第 13 章中阐述了神经元作为**感觉感受器**，将外部环境的信息转换为能够传输给脑内其他神经元的电信号。感觉感受器神经元应用了在第 10 章到第 12 章中阐述的机理，将感觉信息转换为膜离子通道特性的变化。

7

神经元间如何通讯：缝隙连接和神经分泌

在任何有机体内，细胞之间必须能进行通讯。这对于脑以外的其他组织当然也是十分重要的，但对于神经系统的正常功能则是必需的。细胞间通讯有三种基本方式：

(1) 分子或离子从一个细胞的胞浆直接转移到另一个细胞的胞浆，如在第 1 章所述，这一过程是由缝隙连接所介导。

(2) 一种化学物质释放后，扩散并作用于另一个细胞，这一释放过程称作分泌(secretion)。

(3) 直接的物理性接触。当一个细胞的胞浆膜分子与邻近细胞的胞浆膜交互作用，可触发一系列活动而显著地影响该细胞。

本章将阐述前两种通讯方式，它们是神经元执行正常功能产生特定行为的最基本的两种方式。第三种通讯方式在神经元及其联系的发育方面发挥重要作用，我们将在第 14 至第 16 章中作更详细的讨论。

缝隙连接、结合素和电突触

通过缝隙连接进行细胞间通讯，是细胞间交互作用的最简单的方式。一个细胞中的小分子物质和离子经过胞浆膜上的孔道直接扩散到相邻细胞的胞浆中（图 7-1）。在电子显微镜下可观察到这些孔道成簇状分布，有时呈结晶状外观。应用**冰冻蚀刻**（freeze fracture）技术可捕捉到这样排列的电子显微镜图像（图 7-2）。在冰冻蚀刻组织的制备过程中，将胞浆膜冰冻是为了能够在胞浆膜自身的平面内将它劈开。然后在劈开的脂质双层两半侧暴露面上涂上铂和碳，以产生一种“浅浮雕”样的胞浆膜内面观。该方法使我们很容易观察到胞浆膜内的颗粒，这些颗粒是细胞膜的整合蛋白，如受体和离子通道等。图 7-2 显示了含有**缝隙连接颗粒**（gap junction particles）的展平的细胞膜。这些颗粒包括形成跨细胞孔道的蛋白质。

在肝脏和晶状体等组织中含有丰富的缝隙连接，这些组织常被用于制备纯化的缝隙连接蛋白。这些缝隙连接蛋白被命名为**结合素**（connexin）。据认为，膜内的六个结合素蛋白组成复合体，形成一个孔道。结合素六聚体与相邻细胞的结合素六聚体结合，形成与相邻细胞胞浆相通的孔道（图 7-1）。肝脏中的主要结合素蛋白的分子量为27 000，而在其他组织中则含有分子量大小不同的结合素蛋白，这种多样性可能反映这样的事实，即缝隙连接的特性及神经递质或激素对这些特性调制的方式（见第 12 章），在不同的细胞中是不同的。

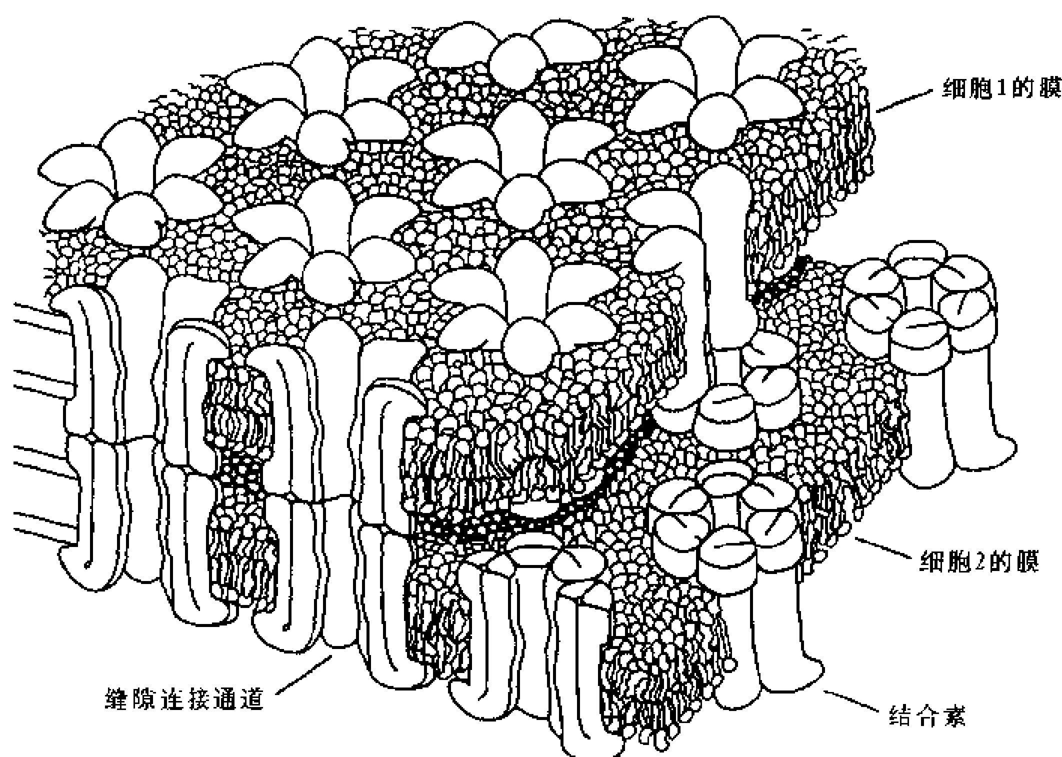


图 7-1 缝隙连接，跨越两个细胞膜的孔道由结合素蛋白构成。此图由 Makowski 等（1977）所作的 X 光衍射实验得来。

也许令人惊奇的是，缝隙连接的电特性与在前面章节谈到过的离子通道的电特性在许多方面似乎相似。尽管缝隙连接允许相对较大的分子，如分子量达 1000 的分子通过，然而，所记录到的缝隙连接的开放和关闭，与允许特定离子通过胞浆膜的离子通道的门控相似。这一点可用全细胞膜片钳在一对由少量缝隙连接偶联的细胞上测量到（图 7-3）。当其中一个细胞的膜电位被维持在较另一细胞为负时，只有细胞间的通道开放才有电流跨孔道流动。例如，在一对心脏细胞，通道开放时的电导大约为 50 pS。

虽然缝隙连接在体内分布广泛，然而对它在大多数组织中的生物学功能还不甚了解。它很可能在组织胚胎发育过程中起作用，因为许多缝隙连接在此时形成，随后又崩解。它们的作用之一可能是使那些在发育过程中具有重要功能的小分子，以及参与细胞内信号传导的第二信使分子在细胞间的转移（见第 11 章）。这样就使一群细胞成为一个功能单位。在神经系统及其他可兴奋的组织中，缝隙连接具有特殊的重要性。神经细胞间的缝隙连接，因其参与快速电信号传导和信息转移这样的事实，而常常被称为**电突触**（electrical synapse）。例如，电突触使神经元群组形成同步电活动。然而，在那些并不经常发生同步放电的神经元对之间也发现存在电突触。在这样的情况下，电突触的功能可能是使一个神经元的突触传入同时被记录到相邻的神经元上。在本书的后面部分（见第 17 章），我们还将谈到一些通过缝隙连接形成电偶联神经元的特殊例子。

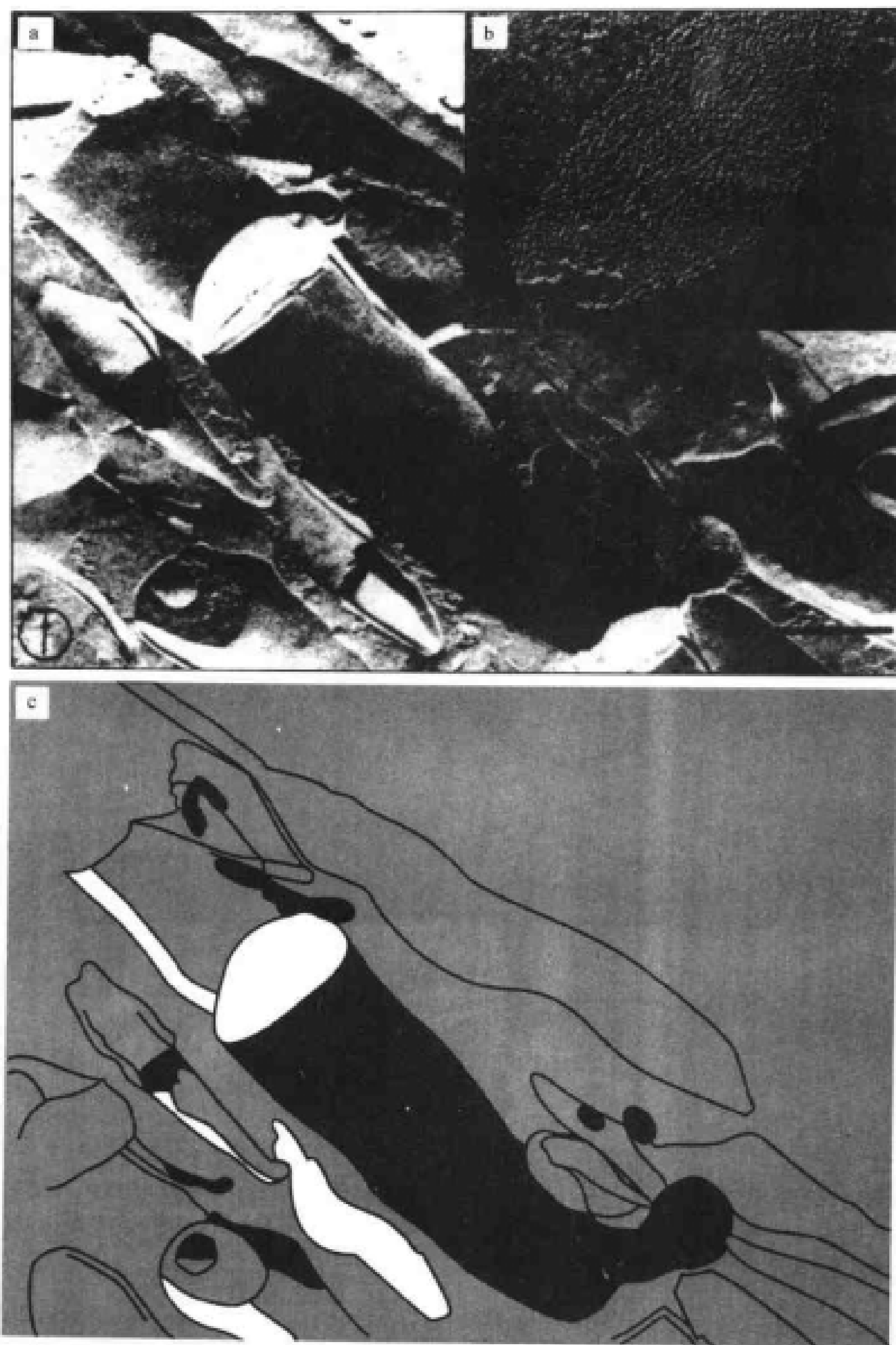


图 7-2 缝隙连接颗粒的冰冻蚀刻复制品。a：电子显微镜显示海兔神经元由缝隙连接相联系的一束突起。b：一排缝隙连接颗粒的放大图。在 a 图中箭头标示的部分缝隙连接颗粒显示于下图中（c）（引自 Kaczmarek et al.，1979）。

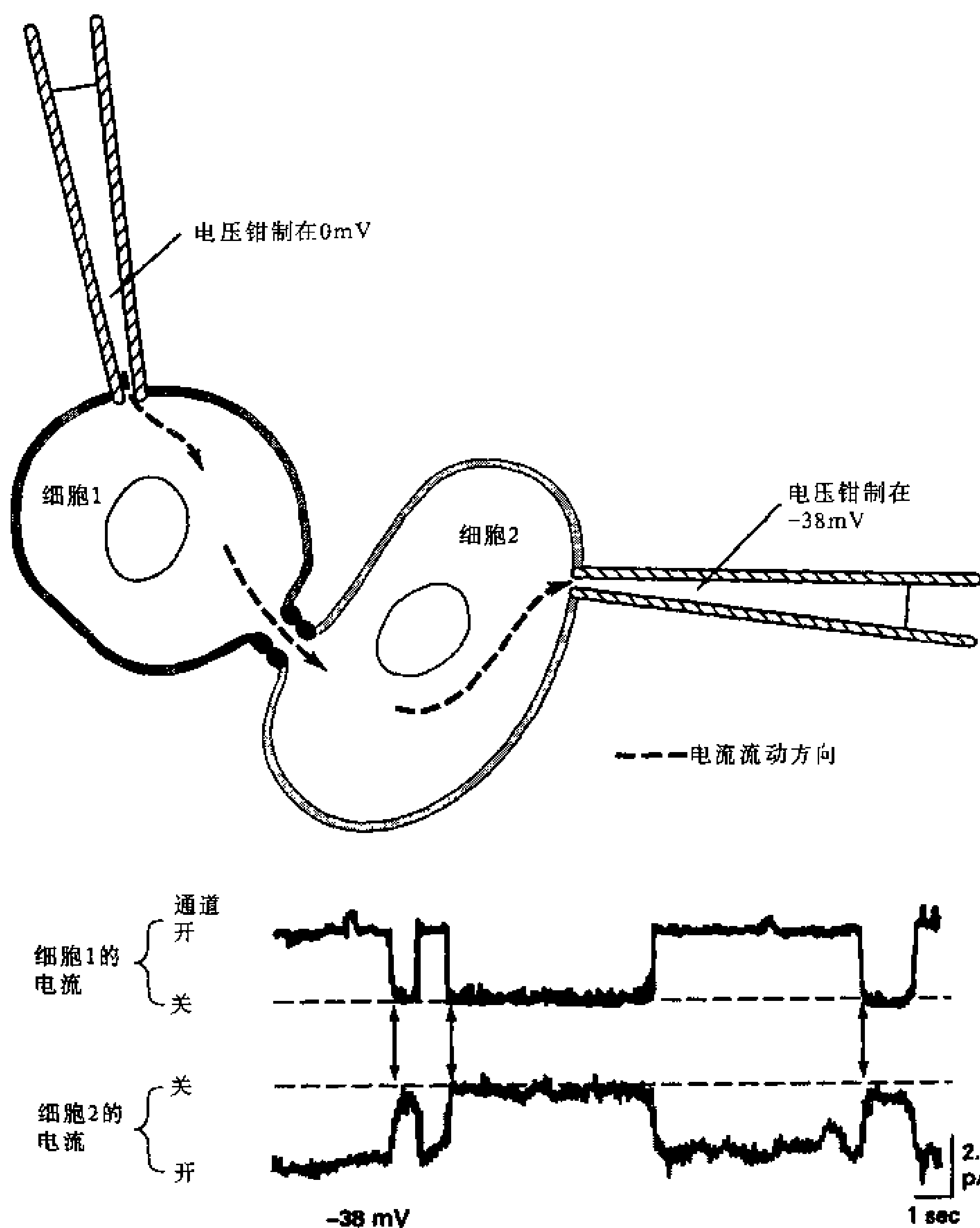


图 7-3 缝隙连接的单通道记录。在 Burt 和 Spray（1988）所做的实验中，两个细胞被电压钳制在不同的电位下。当缝隙连接通道开放时，细胞间的电流流动被记录为细胞 1 的外向电流和细胞 2 的内向电流。

神经分泌

虽然缝隙连接构成了一种非常基本和快速的通讯方式，但它仅限于相邻细胞间的双向交互作用。当信号由一个细胞转移到一个远距离的细胞时，常用的机制是第一个细胞释放化学物质到细胞外间隙，然后该物质通过扩散或被运输到其靶细胞。大量的化学物

质可作为细胞外信号，包括氨基酸和其他小分子有机物、脂质、小分子肽及大分子蛋白质复合物。由一个神经元释放并改变另一神经元或肌细胞的兴奋性的化学物质称为**神经递质**（neurotransmitters）。

图 7-4 显示了使分子离开细胞的部分机制。脂类分子容易通过细胞膜扩散。因此它们一旦合成，即可很容易离开细胞而不需要特殊的转运机制（图 7-4a）。对于亲水性较高的其他特定的分子，胞浆膜上存在载体或孔道使它们能通过胞浆膜（图 7-4b）。但是神经递质释放的主要方式看来是**囊泡分泌**（vesicular secretion）。在神经元的突触末梢常含有大量的**分泌囊泡**（secretory vesicles）（见第 1 章），当神经元受到刺激，这些含有神经递质的囊泡便与胞浆膜融合，然后将囊泡内容物释放到突触间隙（图 7-4c）。这种物质转运方式的出现，可能是由于许多细胞释放的那些大分子肽和蛋白质通常无法通过脂质膜，并且也需要将离子通道和其他膜整合蛋白等蛋白质嵌入胞浆膜。因此，许多有关神经递质释放的认识，来自于对非神经细胞的研究也就不足为奇了。本章的余下部分将讨论在神经元及外分泌细胞内的蛋白质和其他递质的分泌的一般机理。下一章将更详细地阐述两种研究得很清楚的化学性突触的递质释放的生理学。

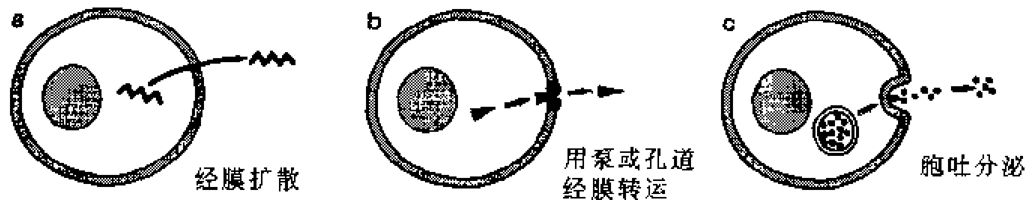


图 7-4 细胞释放物质到细胞外基质的三种途径（a－c）。

蛋白质的结构性分泌和调节性分泌

在所有的真核细胞内，最终要释放到细胞外间隙的蛋白质在**粗面内质网**（rough endoplasmic reticulum）内合成（图 7-5）。新合成的蛋白质首先进入细胞内的**高尔基器**（Golgi apparatus）内，高尔基器由膜性结构紧密地叠在一起形成，蛋白质在此经历一系列翻译后修饰。然后转移到囊泡内，通过出芽脱离高尔基器并移动到细胞的表面。在该处，囊泡通过与胞浆膜融合，将内容物释放到细胞外间隙，这一过程称为**胞吐**（exocytosis）。在某些情况下，囊泡抵达细胞表面后立即发生胞吐，这种分泌被称为**结构性分泌**（constitutive secretion）。膜整合蛋白如离子通道和受体分子等嵌入胞浆膜的适当部位，也是通过结构性分泌完成的（图 7-5）。回顾第 1 章和第 2 章，参与这一分泌过程的细胞器不仅限于神经元，而且神经元的胞体与其他细胞也有许多共同特征。

与结构性分泌相反，神经递质和激素在合成后并不立即释放，而是被装入囊泡中，沿着微管被运输到释放位点，例如轴突终末的释放位点。然后被储存于释放位点，直到细胞接收到适当的刺激才释放。在神经元，这一刺激通常是细胞膜的去极化，它导致钙经电压依赖性钙通道进入细胞。进而触发囊泡与胞浆膜融合，最终导致大量神经递质的释放。这种由外部刺激急剧地调节的分泌称为**调节性分泌**（regulated secretion）（图7-5）。

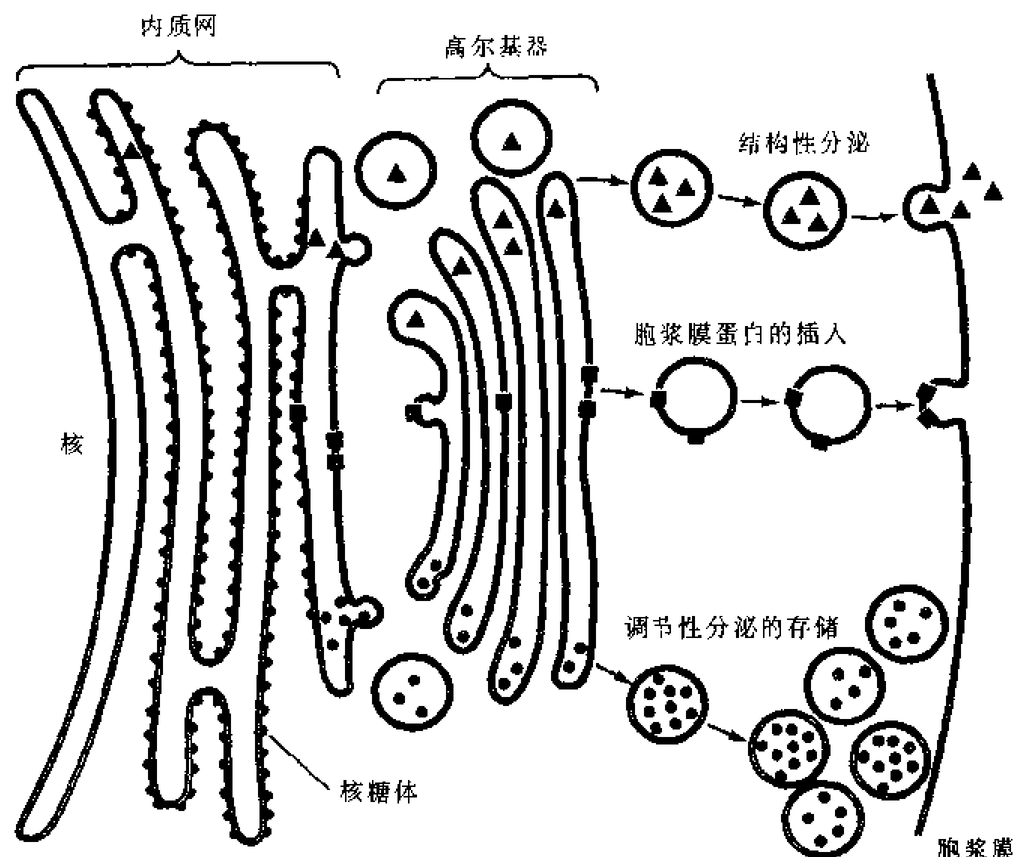


图 7-5 结构性和调节性分泌。上面的两条途径显示蛋白质从核糖体移动到胞浆膜，以结构性分泌释放到细胞外基质或插入到胞浆膜中。下面的途径显示调节性分泌的含蛋白质囊泡的形成。

即使在这些常见的结构性和调节性分泌中，也肯定存在许多变异形式。不同的蛋白质通过结构性分泌途径插入到细胞浆膜的不同部位。神经元含有至少两种参与调节性分泌的囊泡。大的**致密芯囊泡**（dense-core vesicle）主要含肽类神经递质，小的**突触囊泡**（synaptic vesicle）则含有非肽类递质及其合成酶。这些细胞内运输的多样性提示新合成的蛋白质必须被分配到正确的囊泡通路。至少这种正确分配的部分信息可能存在于蛋白质本身的序列中。下面将列出可能存在于新合成的蛋白质内的一些信号，这些信号决定了蛋白质是部分或完整地被分泌，以及通过何种途径被分泌。这一部分的重点将放在肽类神经递质。

被分泌蛋白质上的信号

信号序列　蛋白质合成是从氨基端开始的，将要进入其中一条分泌通路的蛋白质在其氨基酸末端含有一段疏水氨基酸肽链称为**信号序列**（signal sequence）（图 7-6）。虽然不同蛋白质的具体信号序列不同，但是这一疏水氨基酸肽链可被胞浆因子（**信号识别颗粒**，signal recognition particle）及粗面内质网膜上的成份所识别。然后这些因子协助蛋白质通过内质网膜。如果蛋白质未能进入内质网的内腔，最终它们将无法被装入膜性

囊泡内。缺乏信号序列的蛋白质不能通过内质网膜，因此成为胞浆蛋白。当蛋白质通过内质网膜后不久，信号序列就被蛋白水解酶从蛋白质的其他部分切割下来。

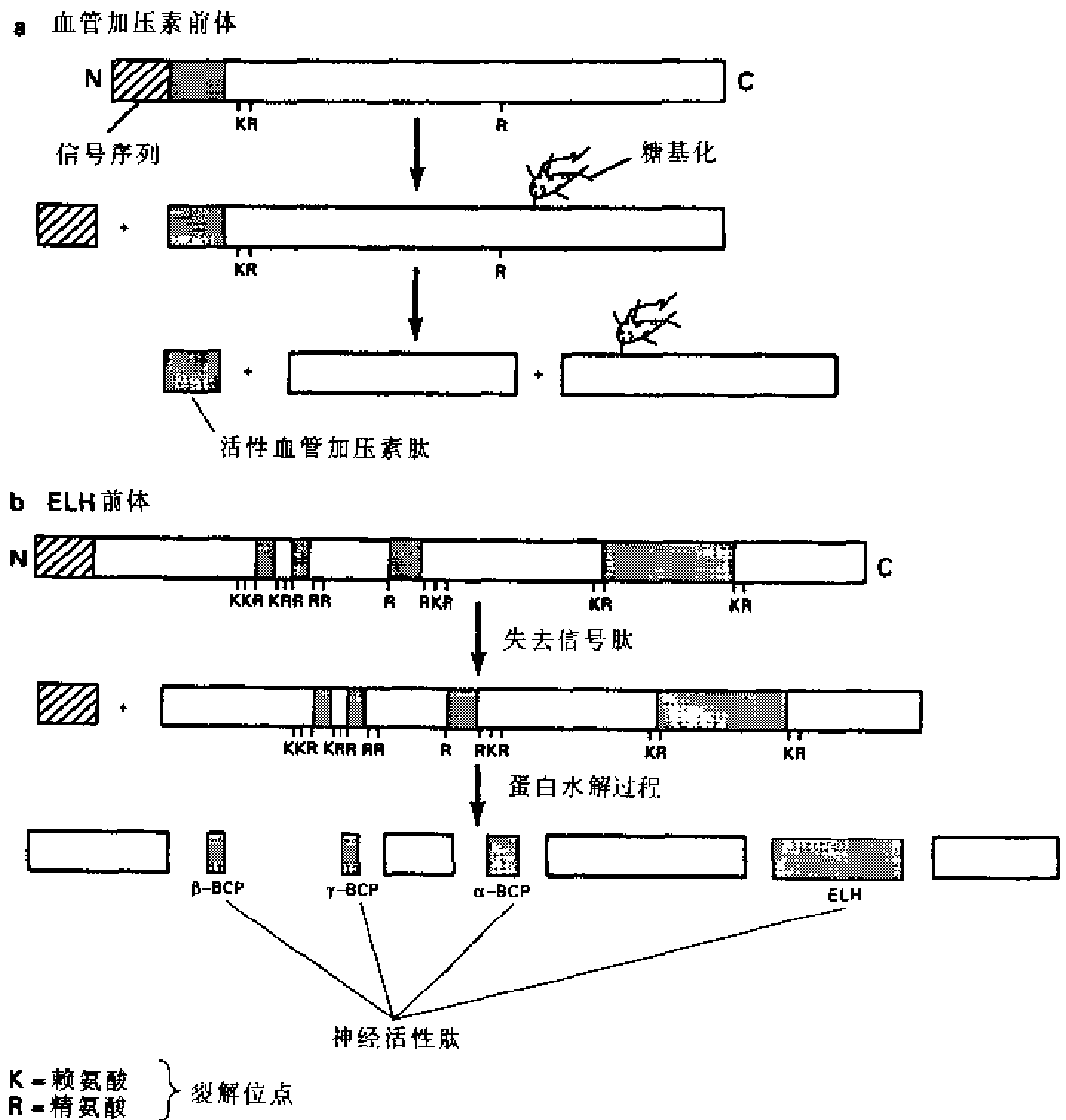


图7-6 神经肽前体的处理过程。a：下丘脑肽血管加压素的形成。b：海兔α、β和γ袋细胞肽和ELH（产卵激素）的形成。K，赖氨酸；R，精氨酸。

分捡信号　必须对新合成的蛋白质进行分类处理，以便将不同的蛋白质分配到相应的分泌囊泡中，从而进入相应的分泌途径。在多数情况下，这一分捡过程似乎发生于高尔基器。目前对**分捡信号**（sorting signal）的本质还不了解。但是看来该信号是蛋白质序列本身的内在特性。例如，将编码胰岛素前体（胰岛素原）的DNA引入到一种正常情况下并不产生胰岛素的垂体细胞系后，DNA不但如常地被转录和翻译成胰岛素原，而且该蛋白质还被装入调节性分泌通路的囊泡内，在适宜刺激作用下，细胞能够分泌胰岛素。肽类递质或激素被分捡装入分泌囊泡常常伴随着蛋白质聚集、浓缩的过程。据推测，这种聚集是为了增加囊泡内肽的浓度。正因为这种聚集在电子显微镜下观察呈非透

明状，因此含肽囊泡常被描述为致密芯囊泡（图 7-7）。

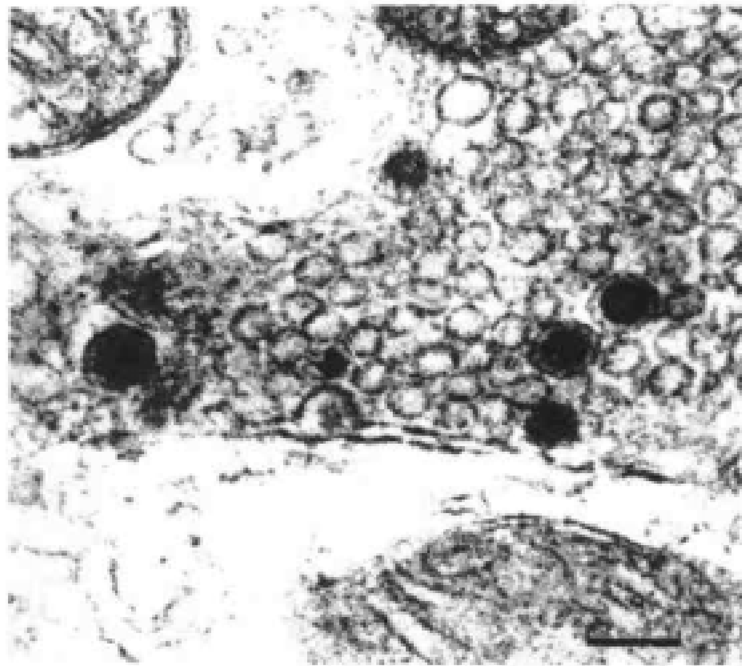


图 7-7 致密芯颗粒和透明囊泡。大鼠神经元终末的部分的电子显微镜照片。几个较大的致密芯颗粒与较小的透明突触囊泡共存。箭头标示正在进行胞吐的囊泡。标尺为 100 μm（Asa Thureson Klein 博士惠赠）。

蛋白水解过程　大多数神经活性肽开始合成的并不是其最终分泌的形式，而是首先合成为一种较大的无活性的前体蛋白或**激素原**（prohormone）的一部分（图 7-6）。一个良好的例子是上述的胰岛素前体或胰岛素原。另外两个例子是在下丘脑特定神经元合成的加压素前体及在海兔袋神经细胞合成的**产卵激素**（egg laying hormone，ELH）。将前体水解成活性肽等小片段常发生于分泌囊泡中，也可发生于高尔基器。在某些情况下，几个不同的神经活性肽源于同一前体，如神经递质 α、β 和 γ 袋细胞肽（BCPs），以及 ELH 均来源于 ELH 前体（图 7-6b）。甘氨酸或精氨酸这两种碱性氨基酸序列常常是前体蛋白水解的位点（图 7-6）。但是水解位点也存在于不以这两种碱性氨基酸为特征的其他部位。

翻译后修饰　新合成的蛋白质及其产生的肽片断，可经高尔基器内或分泌囊泡自身的酶的作用被进一步修饰。表 7-1 列出了一些最常见的共价键修饰方式，其中一些修饰对于肽的生物学活性可能是必需的。例如，一种常见的修饰方式是碳末端的酰胺化，它是由位于分泌颗粒内的 **α-肽酰甘氨酸-酰胺单氧化酶**（peptidyl glycine (alpha) -amidating mono-oxygenase）执行的。这种酶作用于碳末端含有甘氨酸残基的多肽，将甘氨酸切掉后使倒数第二个氨基酸残基酰胺化。图 7-8 说明了无脊椎动物神经肽 **FMRF 酰胺**（FMRFamide）及血管加压素的酰胺化过程。已经发现，加压素等神经肽如未被酰胺

化，它们的生物学活性将明显降低。酰胺化及其他修饰还可影响肽释放后的稳定性。新合成的蛋白质的某些翻译后修饰可能参与进入到相应分泌囊泡的分拣过程。一个这样的先例被发现于溶酶体的蛋白质，新合成的溶酶体蛋白质含有天门冬酰胺残基，甘露糖磷酸基团被加于该残基上。这一基团可被高尔基器上的受体识别，导致这些与糖连接的蛋白质被选择性地转运到溶酶体内。

“经典”神经递质使用一种特别的分泌递径

与肽类神经递质相反，小分子神经递质分子——包括乙酰胆碱、氨基酸递质如GA-BA、甘氨酸和谷氨酸以及胺类如多巴胺、去甲肾上腺素、组织胺和5-羟色胺等——并不是仅仅在胞体合成（见第9章）。相反，上述神经递质的合成酶在胞体合成后被运输到轴突末梢的递质释放部位。因此，当神经递质被电活动耗竭后可在末梢中迅速再合成。这些小分子递质由于其在神经元中的功能远较肽类递质认识得早，因而常常被称为“经典”神经递质。

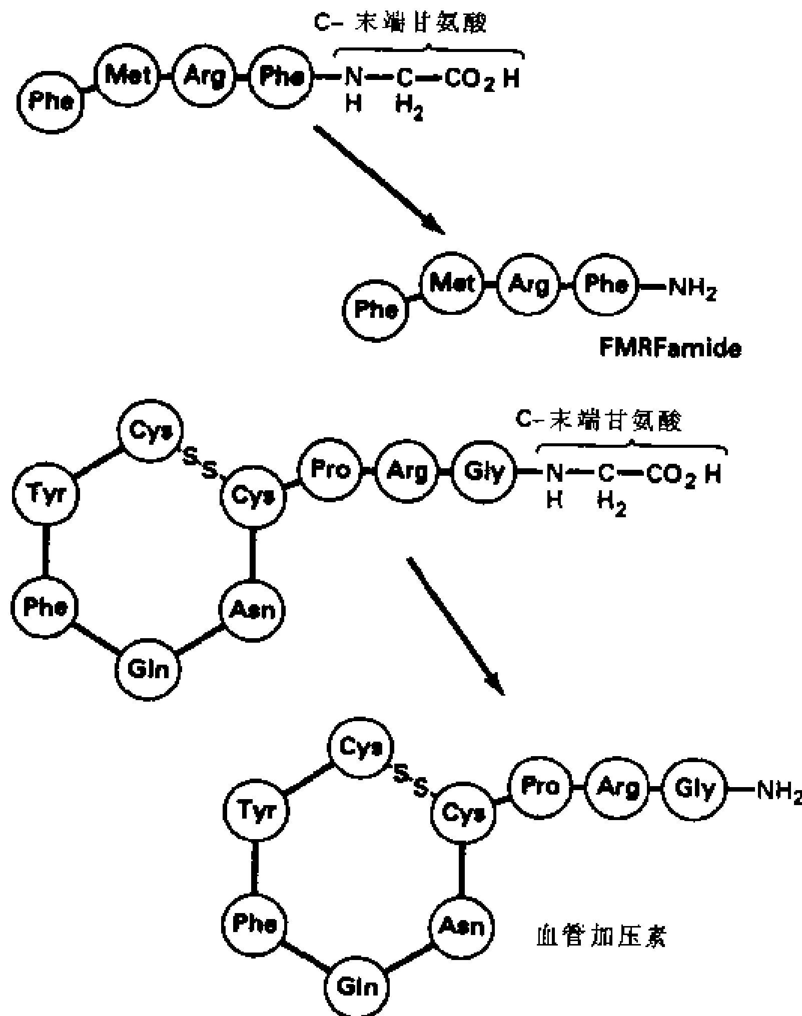


图7-8　C末端酰胺化。通过摘除C末端的甘氨酸形成神经肽FMRFamide和血管加压素。

含有这些经典神经递质的囊泡很小，大小一致（通常直径为 50 nm）。正是这些小突触囊泡与特殊的突触接头的递质快速释放有关（见第 8 章）。由于这些囊泡一般不含有神经肽致密体，因此在电子显微镜下它们的电子密度不高，因而呈现清亮的囊泡（图 7-7）。含多肽颗粒在胞体形成后被运输到神经末梢，与此不同，小突触囊泡是在神经末梢组装形成的。小突触囊泡的各个膜蛋白首先在胞体合成，然后通过结构性分泌途径沿着轴突被运输到终末（见图 7-5）。当这些蛋白质抵达神经末梢后，插入到胞浆膜中，然后经**胞吞**（endocytosis）作用回收形成具有功能的小突触囊泡（图 7-9）。

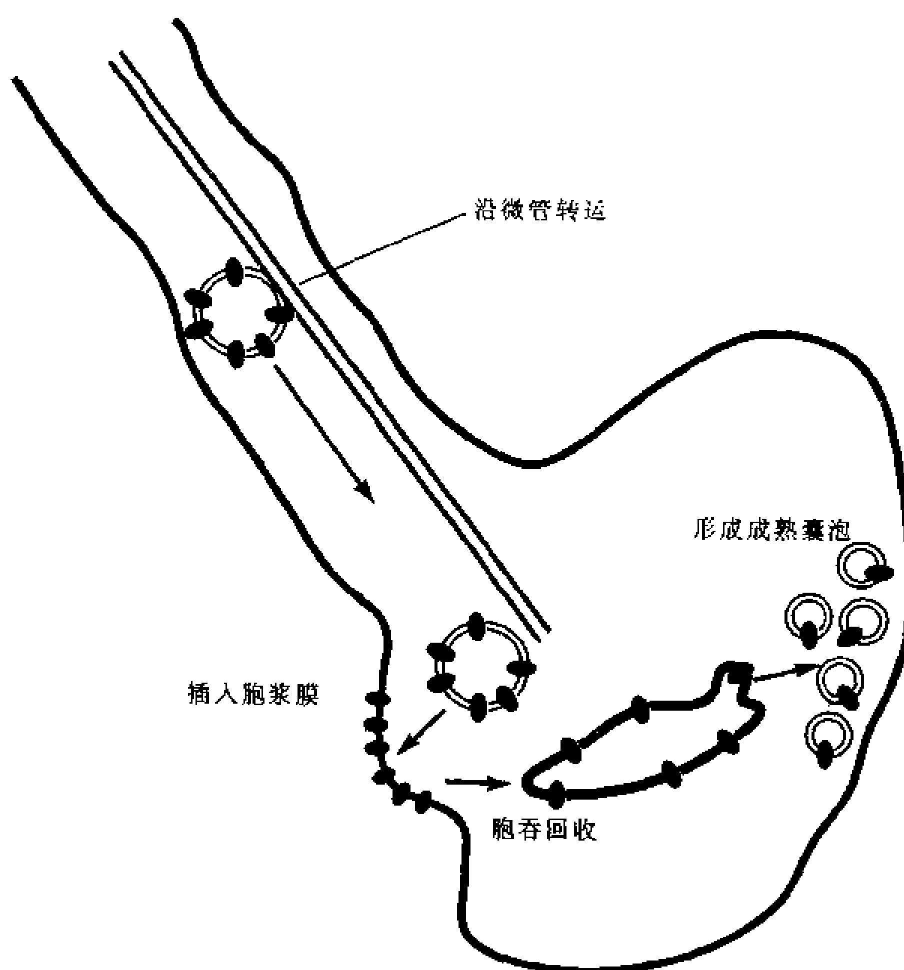


图 7-9　小突触囊泡的形成。囊泡蛋白通过轴突被运输到末梢后插入到胞浆膜中，然后通过胞吞作用再摄入而形成成熟的囊泡。

无论是大的致密芯囊泡还是小的突触囊泡均是通过胞吐作用释放囊泡中的神经递质，导致囊泡的膜蛋白结合到末梢的胞浆膜中。但是，这两类囊泡的释放过程存在本质的区别。一个致密芯囊泡是一个“一次性发射”的装置。它只能释放它的肽神经递质一次，然后囊泡的膜蛋白必须被降解或返回到胞体，在胞体处，形成充满肽类神经递质的新的致密芯囊泡。与此相反，小突触囊泡可在末梢处经重复的胞吐、囊泡蛋白再摄入及神经递质再装填而多次循环使用。

表 7-1　肽类神经递质和激素的一些共价修饰

修　饰	可能的功能	例　子
N 末端谷氨酸转变为焦谷氨酸	提高对蛋白酶的稳定性	神经降压素
C 末端氨基酸酰胺化	提高对蛋白酶的稳定性	P 物质
糖基化（通常糖残基被加到门冬酰胺处）	定位?	促甲状激素——也常在膜整合蛋白中发现
硫酸化	不清楚	胆囊收缩素

神经递质囊泡的胞吐

有大量证据表明，许多非神经细胞通过胞吐实现调节性分泌。例如，肾上腺髓质嗜铬细胞受到递质的刺激后，可诱发分泌颗粒与胞浆膜融合，将内容物释放到细胞外间隙。融入到胞浆膜中的囊泡膜随后通过胞吞作用被迅速再吸收。在许多这样的细胞中，光镜下即可观察到活细胞的胞吐过程。在突触接头处，小突触囊泡的神经递质也是通过含递质囊泡的胞吐作用释放的，但是很难观察到小囊泡的胞吐过程，主要是由于处理微小的突触终末在技术上存在困难。关于突触接头处发生胞吐的证据将在下一章中讨论。

用电容测量法检测胞吐过程　　目前对胞吐的动力学过程仍存在许多未知的问题，即使对那些在显微镜下易于观察到胞吐过程的细胞也是如此。例如，囊泡膜是否一定要与胞浆膜发生完全融合才能释放递质？或者囊泡仅需与胞浆膜瞬间融合，通过跨越两层膜的孔道释放递质，随后孔道重新关闭，囊泡仍然保持完整？这后一种假说的释放机制被称作："**kiss and run 机制**"（kiss and run mechanism）（图 7-10a）。由 Erwin Neher 及其同事设计的一种改变的膜片钳技术回答了上述问题。该技术是基于这样的事实，即细胞的膜电容正比于细胞膜表面积，而膜片钳技术的"全细胞"记录方式可测定细胞膜的膜电容。为连续测量细胞的膜电容，需给予细胞一个高频的（~800 Hz）正弦波指令电压。用**锁入放大器**（lock-in amplifier）测量跨膜电流，这样就可确定与指令电压同相位及 90 度相差电流的幅度。后者与膜电容直接相关。当一个囊泡与胞浆膜发生融合时，膜表面积有微小的增加（图 7-10b）。这就记录为膜电容的相应升高，从而可用膜片钳全细胞记录直接检测到单个分泌囊泡的胞吐过程。

图 7-10c 显示一种小鼠腹膜肥大细胞膜电容的测定。肥大细胞受刺激后可由分泌颗粒释放大量的组织胺，过敏反应中的许多症状就是由此引起。在全细胞记录中，由电极将一种不能水解的 GTP 类似物导入细胞就足以触发组织胺的释放，提示 GTP 结合蛋白（见第 11 章）可能在启动分泌中发挥作用。随着每一个囊泡与胞浆膜融合，可观察到膜电容的阶梯状增加（图 7-10c，左）。也可观察到膜电容的阶梯状减小（图 7-10c，右），这些代表了膜通过胞吐作用被回收。

用该技术测量的分泌囊泡必需足够大，如嗜铬细胞和肥大细胞就含有大分泌颗粒，这样膜面积的增加才能够以膜电容增大的方式被检测到。虽然，目前还不能应用该技术测定完整神经末梢处突触囊泡的胞吐，但是它已为非神经细胞的胞吐过程提供了一些认识。肥大细胞胞吐过程中的一个早期步骤是在囊泡内部和外部介质之间形成一个孔道，

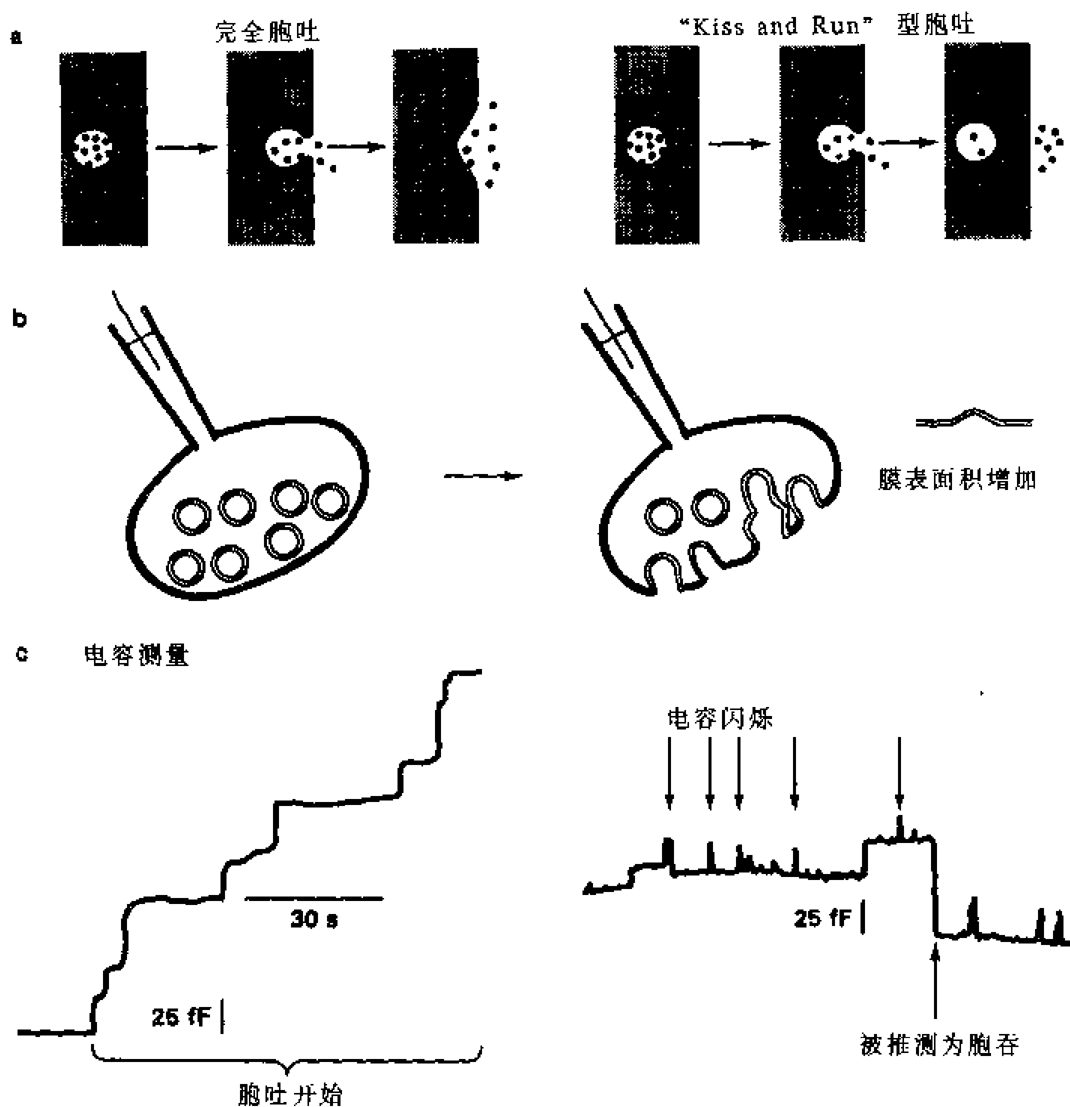


图 7-10 胞吐和膜电容测量。a：图示完全胞吐与"kiss and run"两种胞吐模式的对比。b：胞吐引起细胞膜面积的增大。c：在肥大细胞上的电容测量证明，在胞吐过程初期电容成阶梯状升高（左）或电容成"闪烁"状和阶梯状下降（右）。这个实验由 Erwin Neher、Wolf Almers 和他们的同事完成。

其初始的电导值约 230 pS。随着时间的推移，电导因孔道的扩大和囊泡与胞浆膜的融合而增大。但是孔道形成的初期是可逆的，这即是所看到的"闪烁"现象的出现，是由于膜电容在两个不同水平之间跳跃（图 7-10c）。这表明囊泡能与胞浆膜融合并发生孔道的部分扩大，但随后又返回到"关闭"状态，而不发生完全的胞吐。目前尚不清楚在这种部分融合期间，分泌囊泡的内容物是否被释放。尽管如此，这些发现仍在一定程度上支持在胞吐的"kiss and run"方式期间可能有递质释放的假说。

突触囊泡膜的蛋白质及胞吐的机制

对突触囊泡膜内，或者附着于囊泡膜上的蛋白质的研究现已取得许多发现。通过亚

细胞分离法可从神经系统中制备较纯的突触囊泡。该技术首先是在一种能维持细胞器如线粒体和突触囊泡等结构完整的溶液中，将神经组织匀浆。由于不同细胞器的大小不同，因此用蔗糖梯度离心法可将组织匀浆中的各类细胞器分离开来。应用这种技术可从神经组织以及其他分泌组织中获得相对纯化的囊泡标本。

获得了纯化的囊泡，我们就可以确定在胞吐过程中的一些关键分子以及它们之间的关系。表 7-2 列出了与分泌囊泡有关的几种蛋白质。其中一些蛋白质将在下面内容中讨论，其他蛋白质将在后面章节中论述。需要指出的是，那些含有小分子神经递质如乙酰胆碱、谷氨酸、GABA 或甘氨酸的小突触囊泡，其膜蛋白组成稍微不同于以肽类递质为主的稍大的致密芯囊泡。尤其是有一组蛋白质似乎仅存在于小突触囊泡。

搭靠相关蛋白　正如上面所述，胞吐是一个膜（囊胞膜）与另一个膜（胞浆膜）的融合。这种膜的融合是一种非常普遍的生物过程，例如囊泡从内质网到高尔基器的移动就需要这种膜的融合（见图 7-5）。融合分两步过程进行。首先两个膜互相紧密联接（图 7-11）或称“**搭靠**”（docking），搭靠之后发生膜的主动融合。胞吐的特殊性在于这种融合的受体膜是胞浆膜。很显然，这种融合在细胞内并非毫无选择地进行，否则所有囊泡和细胞器的内容物将混在一起。因此，在每个膜的表面出现了仅与相应的膜发生搭靠的特定的分子。在神经递质释放的情况下，控制这一过程的两种关键的蛋白质是**突触小蛋白**（synaptobrevin）和**联接蛋白**（syntaxin）（表 7-2）。

表 7-2　一些经广泛研究的突触蛋白质

蛋白质	注释
突触囊泡膜蛋白	
突触小蛋白（synaptobrevin）	见正文。又称**囊泡相关囊蛋白**（vesicle-associated membrane protein；VAMP）；有三种已知的类型：突触小蛋白 1 和 2 及细胞小蛋白
泡融蛋白（synaptotagmin）	见正文
突触素（synaptophysin）	见正文。已知三种类型：突触素，synaptoporin 和 panthophysin
SV2	一种有 12 个跨膜区的蛋白质，与转运子家族有同源性（见第 9 章）；已知两种类型：SV1 和 SV2
质子泵（proton pump）	见正文
神经递质转运蛋白（neurotransmitter transport proteins）	见正文
氯通道（chloride channels）	
突触囊泡相关蛋白	
rab3A，3B，3C，3D	GTP 结合蛋白。见正文
rabphilin	见正文
突触蛋白（synapsin）I a，b	见第 8 章
突触蛋白（synapsin）II a，b	见第 8 章

续表

蛋白质	注释
NSF	见正文
α、β、γ SNAP	见正文
钙钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II (Ca^{2+}/Cam kinase II)	见第8章
Munc-18 蛋白	见正文
半胱氨酸串蛋白（cysteine string protein）	可能调节活动区的钙通道
胞浆膜蛋白	
联接蛋白（syntaxin）1A，1B	见正文。已知6种类型
神经连接蛋白（neurexin）	见正文。由3个有多种剪接变异体的基因编码；结构中包含层粘蛋白和聚集素的重复区
突触体相关蛋白-25（SNAP-25）	见正文

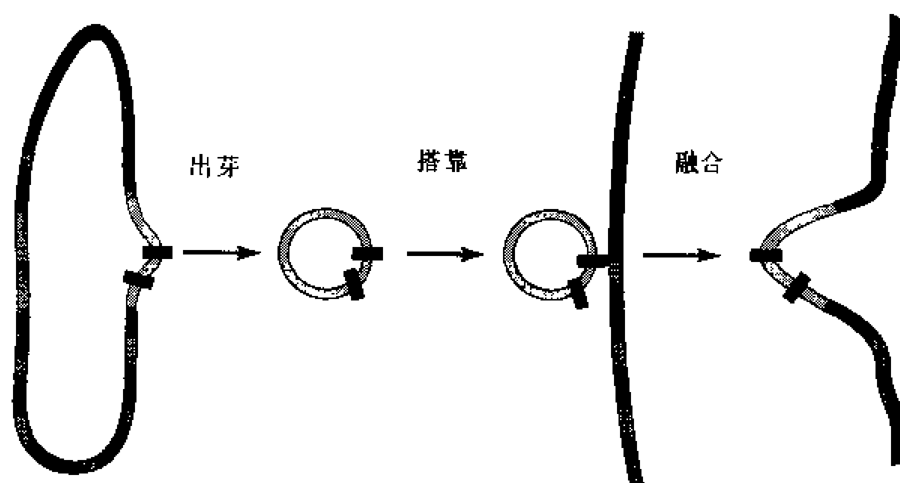


图 7-11　囊泡从胞内膜与胞浆膜融合的移动过程。

突触小蛋白是一种突触囊泡蛋白，在囊泡膜中的分布极不均匀。只有蛋白的碳末端的一小部分氨基酸位于囊泡内，蛋白主体的大部分位于细胞浆（图 7-12a）。泡融蛋白有非常相似的结构，但它位于突触的胞浆膜，大部分也是位于胞浆内。突触囊泡在胞浆膜搭靠的主要部分归因于这两种蛋白质的细胞浆膜结构域的交互作用。

突触小蛋白和泡融蛋白之间的交互作用发生于调节膜融合的一个较大的蛋白复合体内。这个复合体的另一成分是 **SNAP-25**（**突触体相关蛋白**-**25**，Synaptosomal Associated Protein，分子量 25 kDa），它是另一种胞浆膜蛋白。SNAP-25 并不是真正的膜整合蛋白，但它通过软酯酰链牢固地搭靠在胞浆膜上。这些软酯酰基是连于蛋白质一端的一簇半胱氨酸残基的脂质链，并牢固地插入到胞浆膜的脂质环境中。

膜融合相关蛋白　　虽然突触小蛋白、联接蛋白和 SNAP-25 可能是使囊泡膜与突触胞浆膜相配的锁和匙的重要部分，但是另一组蛋白质则起到调节两膜之间的融合的黏

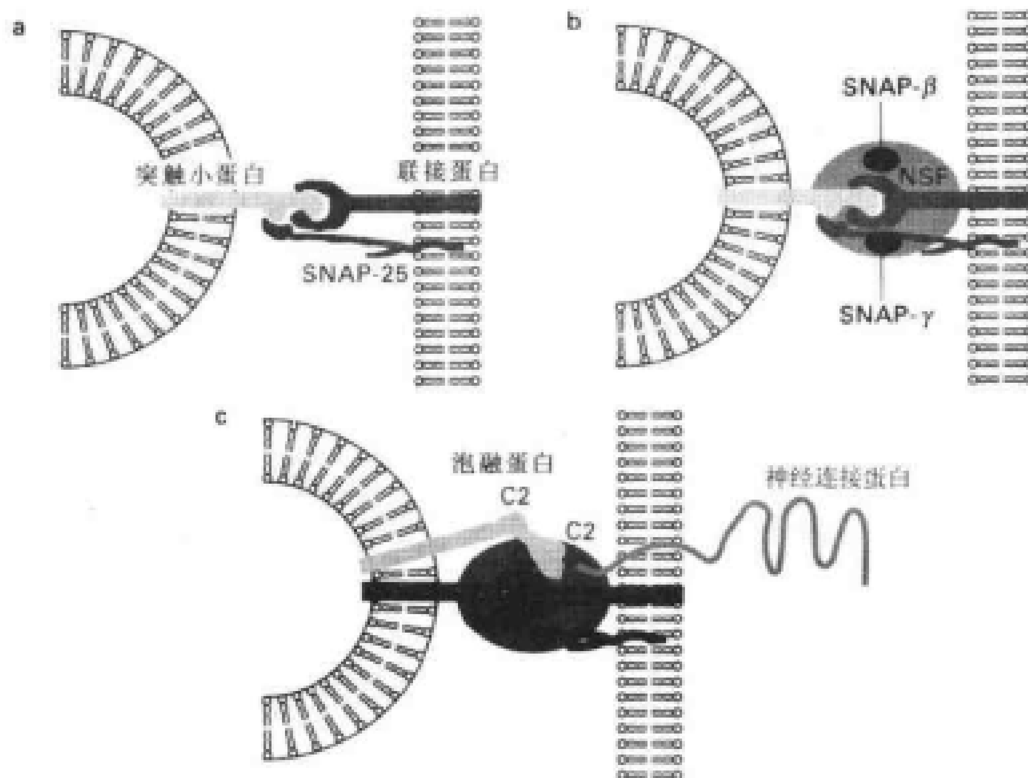


图 7-12 融合复合体。a：通过突触小蛋白、联接蛋白和 SNAP-25 的交互作用，使突触囊泡与胞浆膜结合。b：加入 NSF 和 SNAP 后，形成融合复合体。c：囊泡蛋白 synaptotagmin（泡融蛋白）和胞浆膜蛋白 neurexin（神经连接蛋白）与融合复合体的联合。

胶的作用（图 7-12b）。它们包括由三个 76 kDa 亚单位组成的被称作 **NSF**（由它的化学性质之一命名，**N-乙基-顺丁烯二酰基亚胺敏感因子**，N-ethyl maleiimide sensitive factor）的同三聚体蛋白和 SNAP 蛋白。由于采用反常规的命名法，这些 SNAP 蛋白事实上与 SNAP-25 完全无关，它应被命名为**可溶性 NSF 附属蛋白**（soluble NSF accessory proteins)。已知有三种不同的 SNAPs 存在，分别被称作 α-、β-和 γ-SNAP。融合复合体需要 γ-SNAP 与 α-或 β-SNAP 之一的同时存在。由这一 SNAP 胶粘合到一起的蛋白质（如突触小蛋白和 SNAP-25），被称为 **SNARES**（**SNAP 受体**，SNAP-receptor)。

细胞内的钙升高是怎样触发突触囊泡与胞浆膜融合的呢？虽然这一问题的答案仍不清楚，但这种钙感受器的一个主要候选者被认为是一种名叫**泡融蛋白**（synaptotagmin）的突触囊泡蛋白。正像突触小蛋白-联接蛋白二聚体一样，泡融蛋白也与胞浆膜上的一种蛋白质结合。这种蛋白质称为**神经连接蛋白**（neurexin)，与泡融蛋白的 N 末端结合（图 7-12c)。通过与其他蛋白质如联接蛋白等的结合，泡融蛋白和神经连接蛋白也可能参与融合复合体的构成。

泡融蛋白是一种钙结合蛋白，其胞质部分的两个区域称为 C2 结构域，与其他蛋白质中与钙和磷脂结合的区域非常相似。事实上，只有当钙水平升高到囊泡释放期间的突触终末内的钙水平时，泡融蛋白才与脂质膜发生结合。因此，通常由两个或多个分子结合形成多聚体而存在的泡融蛋白，具备了人们所预期的控制钙依赖性融合的蛋白的条件。

从列举了许多突触蛋白质的表 7-2 可看出，一些蛋白质存在多种类型，这一点我们在前面已经讨论过。例如，有三种突触小蛋白，称为突触小蛋白 1、2 和 3。虽然这三种蛋白互相之间很相似，但各自都是由不同的基因编码，而在不同的细胞中每种亚型的含量可能不同。而且，每种突触小蛋白与六种不同的联接蛋白分子中的一些优先结合。

识别胞吐相关突触蛋白的毒素　正如我们在本书中已经看到和即将反复看到的那样，通过对作用于神经系统的毒素的研究，已经获得对神经元功能的作用机制的重要认识。在神经递质释放的例子中，突触小蛋白和 SNAP-25 是胞吐所必需的证据来自对三种致命细菌性神经毒素的研究：即破伤风毒素、肉毒杆菌毒素 A 和 B。由产生这种毒素的细菌而得名的这种**梭状芽胞杆菌神经毒素**（clostridial neurotoxin）引起的中毒，是通过阻断神经递质释放而引起麻痹。破伤风毒素引起强直性麻痹，以肢体僵硬为特征，是通过阻断中枢神经系统的递质释放；而肉毒杆菌毒素 B 通过阻断神经肌肉接头处的乙酰胆碱释放引起弛缓性麻痹。

由细菌产生的梭状芽胞杆菌神经毒，起初是一个蛋白单体，后被水解成两个不同的亚单位：一个轻链和一个重链。这些亚单位有各自不同的功能，通过二硫键连接起来（图 7-13a)。重链结合到神经元的外膜后，可促进轻链进入突触终末的细胞浆。因此，破伤风毒素和肉毒杆菌毒素重链的不同决定了受它们影响的特定神经元不同。

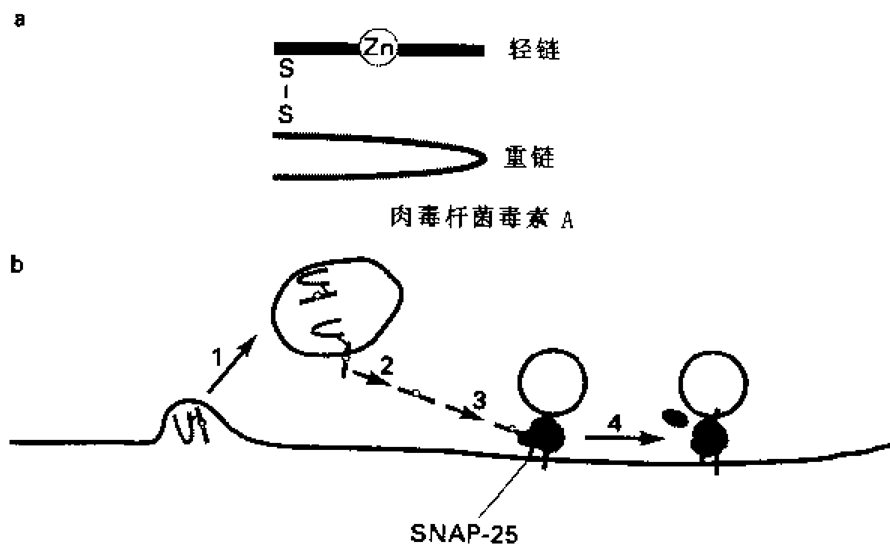


图 7-13　梭状芽胞杆菌毒素对神经传递的阻断。a：肉毒杆菌毒素 A 的结构。b：肉毒杆菌毒素 A 被摄取入神经终末内，随后肉毒杆菌毒素的轻链释放和 SNAP-25 蛋白水解。

事实上，正是与锌离子结合的毒素的轻链造成了对细胞的损害。一旦这些轻链从重链上释放出来并进入细胞浆，它们就会像蛋白酶一样迅速地破坏突触末梢内选定的蛋白质。例如，肉毒杆菌毒素 B 和破伤风毒素只破坏突触小蛋白，而肉毒杆菌毒素 A 选择性地裂解 SNAP-25（图 7-13b)。另一种毒素肉毒杆菌毒素 C1 则破坏联接蛋白。因为每种毒素的作用具有很强的特异性，并且都减弱神经递质的释放，所以为突触小蛋白、联接蛋白和 SNAP-25 是胞吐机制的关键性组成部分提供了直接证据。

神经连接蛋白参与释放过程的关键证据来自另一种毒素，即来自黑寡妇蜘蛛毒素。与和释放过程有关的大部分蛋白质不同的是，神经连接蛋白分子有一个很大的细胞外结构域（图 7-12c）。被称为 **α-黑蜘蛛毒素**（α-laterotoxin）的蜘蛛毒素，与突触终末外的这个结构域结合，使小突触囊泡大量胞吐。由这种毒素刺激的释放与正常情况下由动作电位引起的钙内流无关。据认为，α-黑蜘蛛毒素与神经连接蛋白的结合可能诱发融合复合体的改变，模拟了细胞内钙水平升高时的变化。

GTP-结合蛋白调节递质释放　　已知与 GTP 结合的一组蛋白质调节发芽和融合过程，而发芽和融合过程控制所有膜性囊胞在细胞之间的交通（图 7-14）。这些 GTP 结合蛋白称为 **rab 蛋白**（rab protein）（见表 7-2），这个家族的不同成员与高尔基器或内质网等不同的膜结合。这一蛋白质家族的突触囊泡成员称为 **rab3**，它与融合复合体中的蛋白质结合，被认为催化此复合体在胞浆膜的适当位点的形成。

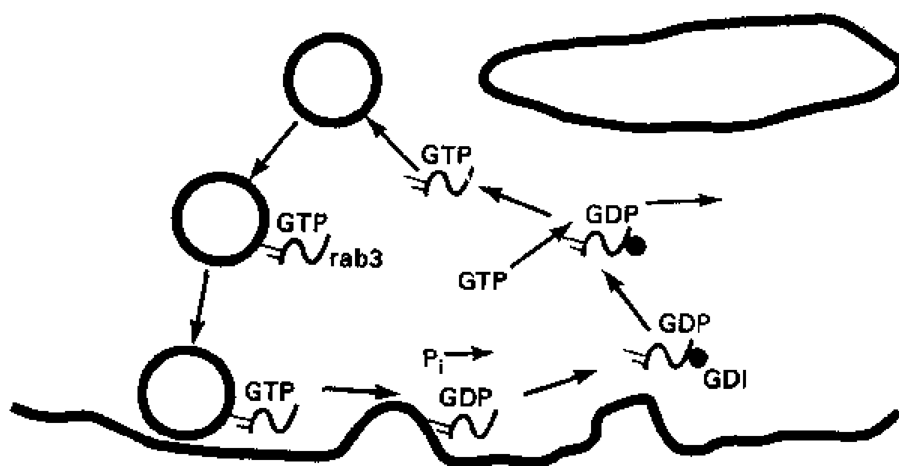


图 7-14　来自突触膜的 rab3 的 GTP 依赖性结合与解离循环。

rab3 蛋白有两种不同的存在形式（图 7-14）。大部分时间它通过一条脂质链锚锭到突触囊泡膜上，这一脂质链称为牻牛儿基团（geranylgeranyl group），它通过特定的半胱氨酸残基连接到 rab3 蛋白上，与软酯酰基团连接到 SNAP-25 分子的方式相似。只有当蛋白质与 GTP 结合时才能连接到膜上。当囊泡融合发生时，结合的 GTP 被水解为 GDP，同时 rab3 从囊泡膜上脱离下来，开始以一种神经末梢胞浆内的可溶性蛋白质的方式开始它的第二种存在形式。为了变成可溶性蛋白，结合有 GDP 的 rab3 还必须与一种称为 **GDI**（**GDP 分解抑制物**，GDP-dissociation inhibitor）的可溶性蛋白质结合。rab3 蛋白上的 GDP 随后与胞浆中的 GTP 置换，这样 rab3 才能再次经脂质修饰，以便同那些还没有搭靠到胞浆膜处的囊泡结合。因而，突触末梢处的发芽与融合的每次循环，都与一次 GTP 水解的循环相关（图 7-14）。

已知 rab3 与 rabphilin 结合，rabphlin 是与泡融蛋白一样含有两个 C2 区的蛋白质。然而，与泡融蛋白不同，rabphilin 不是一种跨膜蛋白，而只是通过与 rab3 的结合，被锚锭在囊泡膜上。在融合循环过程中，rab3 除与融合复合体本身作用外，可能也与胞浆膜上的蛋白质交互作用。在第 8 章我们将会看到，rab3 似乎是分泌过程的重要成分，

但它在神经递质分泌方面的确切功能仍不清楚。

突触素和 munc-18：融合复合体蛋白的轮替伴侣　突触囊泡膜上最丰富的蛋白质之一是**突触素**（synaptophysin）。每个突触素蛋白跨越囊泡膜四次，并与其他突触体素分子形成同寡聚体。这种蛋白质不是前面描述的融合复合体的一部分。然而，它能与尚未进入融合复合体的游离突触小蛋白结合。虽然突触素的作用还不清楚，但是调节它与突触小蛋白的结合，可能限制融合复合体的产生速度。据推测，突触素的其他两个作用是：它将突触囊泡膜组织起来形成稳定的球形细胞器，以及形成膜电容测量中探测到的融合孔的一部分。

在神经末梢，**munc-18 蛋白**是一种可溶性蛋白质，像突触素一样，它不是融合复合体的组成部分，但能与复合体中的一个成员相结合。Munc-18 蛋白与浆膜蛋白联接蛋白结合，这种结合反应看来可阻止联接蛋白与它的 SNARE 伴侣进入复合体。因此，munc-18 也可能起调节融合复合体的形成的作用。

小突触囊泡的再循环

一旦囊泡通过与胞浆膜融合而释放它的内含物，囊泡膜和进入胞浆膜的突触囊泡蛋白会被重新利用。这一过程存在于含经典神经递质的小突触囊泡和含神经肽的较大的致密芯颗粒。在小突触囊泡，回收的膜能被循环利用，形成新的充满神经递质的小囊泡。相反，含神经肽颗粒的膜蛋白会被破坏或返回胞体。

小突触囊泡从胞浆膜上的再生包括几次新的出芽和融合的循环，从而引出一组新的蛋白质（图 7-15）。第一个是**动蛋白**（dynamin），它促进囊泡膜从胞浆膜上出芽。与我们在第 2 章讨论过的运动蛋白及其相关蛋白相似，动蛋白是一种运动蛋白，在 GTP 的参与下能产生运动。但是这种产生动力的蛋白质并不属于运动蛋白家族。当含有突触囊泡蛋白的膜开始从胞浆膜上出芽时，动蛋白围绕在新出芽的囊泡颈部形成一个蛋白颈圈（图 7-15）。据推测，这个颈圈把芽体从膜的剩余部分剪切下来。在动蛋白缺陷的细胞中，囊泡蛋白不能从浆膜上回收。一个这样的例子出现于果蝇 shibire 株身上。在温度升高时，这些果蝇的动蛋白失去功能而形成缺失，因此，升高温度会产生快速的可恢复的麻痹，就是因为突触囊泡不能被循环利用。

当囊泡膜开始从胞浆膜上出芽时，会被一层称为**包涵蛋白**（clathrin）的蛋白质包被。这一外套的结构类似由铁丝网做成的鸡笼。笼的每条连线是由包涵蛋白分子的三条重链和三条轻链组成的“三条腿”蛋白复合体。当被包被的囊泡从胞浆膜上出芽后，移动到称为**早期内涵体**（early endosome）的另一种膜结构上。在这种结构上形成了新的突触囊泡。被覆的囊泡与“早期内涵体”融合后，回收的突触囊泡蛋白就将被转移到新的小突触囊泡中去。

由早期内涵体出芽面形成的囊泡必须重新填充上神经递质方能形成成熟的突触囊泡。在此之前，囊泡内首先由质子泵的活动而酸化。这种质子泵在把氢离子经膜泵入囊泡腔的过程中使用胞浆中的 ATP。由这种泵产生的酸性环境是必需的，因为它通过囊泡膜上的特异转运蛋白驱动神经递质的摄取和储存。

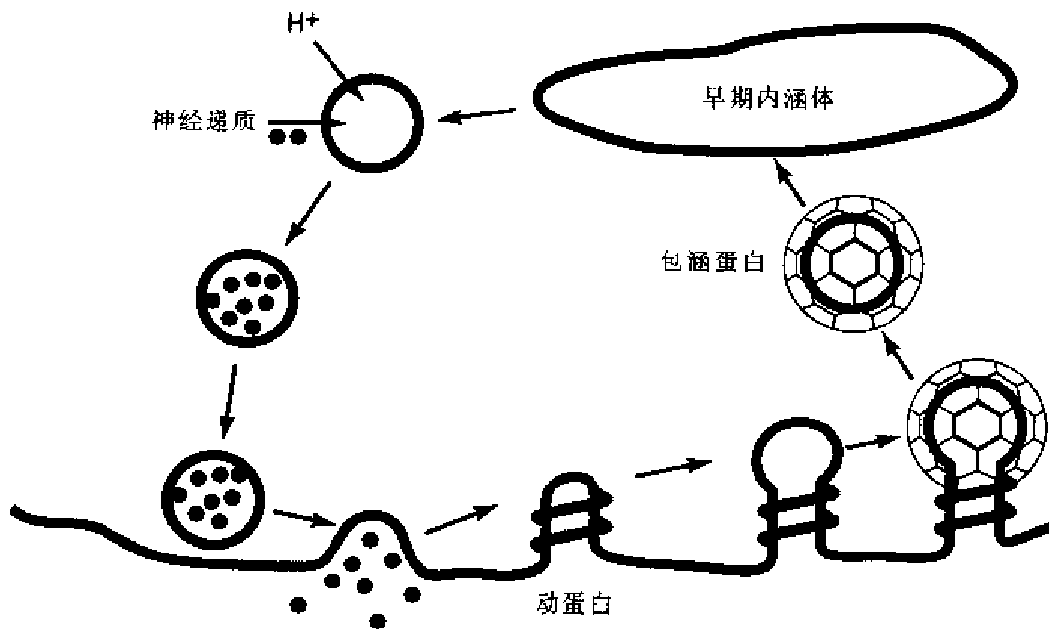


图 7-15 突触囊泡膜的循环利用。胞吐后，囊泡膜由运动蛋白动蛋白回收并由包涵蛋白包被。之后，该膜被运送到早期内涵体、重组成新的囊泡，并重新填充上神经递质。

检测突触蛋白质的作用

在这一章，我们介绍了参与突触末梢胞吐作用的许多重要分子。大部分信息来源于对这些蛋白质之间的交互作用的生物化学研究。我们已经看到，天然毒素对确定胞吐过程所必需的蛋白质起了关键性作用。也有一些其他的实验方法可阐明特殊的突触蛋白的功能，包括诸如注射特定的蛋白质入突触末梢，或造成具有特定蛋白质缺陷的突变型动物等技术。然而，为了理解这些研究方法，我们必须首先更详尽地了解突触传递的生理学。下一章我们将讨论这方面的问题，也会介绍另外一些调节递质释放的分子。

在这里需要强调的是，我们所知的有关胞吐过程中的生物化学交互作用大部分来自对小突触囊泡蛋白质的研究。因为在脑内，它们比含神经肽的致密芯颗粒要丰富得多。致密芯囊泡的胞吐机制几乎肯定包括稍微不同于小突触囊泡的一组蛋白质，而肽类神经递质的分泌的基本机理是否有所不同仍有待解答。

神经递质的非囊泡性释放

大多数神经科学家相信，胞吐是大部分突触接头处的递质释放的主要形式，虽然要明确地证实这一点非常困难。但是，有几个有关神经元释放递质的例子的机制，很可能与钙依赖性胞吐作用的机制不同。在视网膜上发现了一个这样的例子。**光感受器**（photoreceptor）组成的一些突触，以及一种称为**水平细胞**（horizontal cell）的视网膜细胞组成的一些突触，缺乏突触囊泡。而且，与多数突触相反，这些突触释放神经递质不需要细胞外钙。应用鲶鱼视网膜的一种水平细胞，发现在细胞内钙离子浓度不变的情况下，

神经递质 GABA 随突触前膜去极化而呈梯度释放。据推测，胞浆膜上存在一种载体蛋白，受去极化影响，这种蛋白质将 GABA 从胞浆转运到细胞外间隙。此外，也存在其他一些明显的非囊泡递质释放的例子。

小结

神经元间通讯的两种方式是直接电耦联和神经递质分泌。电耦联是由于结合素蛋白形成孔道连接相邻的细胞胞浆。离子以及小分子可以运载信号通过这些孔道从一个细胞到达另一个细胞。神经分泌则是一个更复杂的过程，不同种类的分子被分门别类储存在胞浆的囊泡内。这些囊泡内的一系列化学过程保证了它们含有具生物活性的递质或激素。刺激细胞常引起细胞内钙离子升高，从而使囊泡与浆膜融合，并把它们的内容物释放到细胞外间隙。阐明这一过程的分子机制是细胞生物学家正面临的挑战。

8

突触的神经递质释放

从前一章我们知道，蛋白质是通过膜性囊泡的泡吐作用而分泌的。这一分泌过程通过内分泌细胞、外分泌细胞和神经细胞的长期进化精雕细琢而成。它使细胞分泌出特定的化学信号物质，通过扩散作用于受体细胞。内分泌细胞的作用是化学性通讯，在许多情况下，神经元的特性与内分泌细胞非常相似。正如内分泌细胞一样，某些神经元直接释放肽进入血液。而其他神经元则释放递质到局部的细胞外间隙，这些递质缓慢地扩散一定距离，并影响许多其他神经元。然而，许多神经元与这些细胞类型不同，因为它们在物种进化的迫切需求下，生发出与特异的靶神经元和肌肉细胞的非常快速的化学性通讯。由于这个原因，它们发育出长的轴突，把信使物质的来源直接带到它们的靶细胞的膜上。此外，神经元经常用可以在轴突终末直接合成的小分子化学递质传递信息，而不常用在胞体合成再转运到终末的递质，如肽类递质。突触终末递质释放的特点与其他许多分泌细胞的特点不同。在这一章，我们将阐述两种研究得很透彻的突触接头的递质释放：**脊椎动物的神经肌肉接头**（vertebrate neuromuscular junction）和**枪乌贼的巨突触**（giant synapse of the squid）。

递质释放是量子化的

我们知道，在许多细胞中，分泌是通过把储存在囊泡内的肽或激素以胞吐作用而成包释放的。在多数化学突触上，神经递质的释放也是以小包或**量子**（quanta）的方式释放的。这一点首先由 Bernard Katz 及其同事在神经肌肉接头的电生理学研究中证实。他们在突触后肌肉细胞上放置电极，并测量突触刺激诱发肌肉去极化的程度。这一去极化的程度在多种实验条件下提供了突触的递质释放量的直接度量。

脊椎动物的神经肌肉接头　　图 8-1 是青蛙的神经肌肉突触的示意图，该突触以乙酰胆碱为递质。大量突触囊泡与突触前膜名为**活动区**（active zones）的特化区域相连。靠近突触前膜胞浆侧被称为**致密栅**（dense bar）的结构，但对这些致密栅的性质还不十分了解。这些致密栅可能使突触囊泡在释放处排成一行。在肌肉细胞上，乙酰胆碱结合的**受体分子**成簇状位于最靠近突触前终末活动区的膜的区域。

EPPs 和 MEPPs　　当突触前神经受到刺激时，动作电位沿轴突传到突触前终末，终末的去极化导致乙酰胆碱的释放。随后乙酰胆碱作用于突触后膜上的受体，使肌肉细

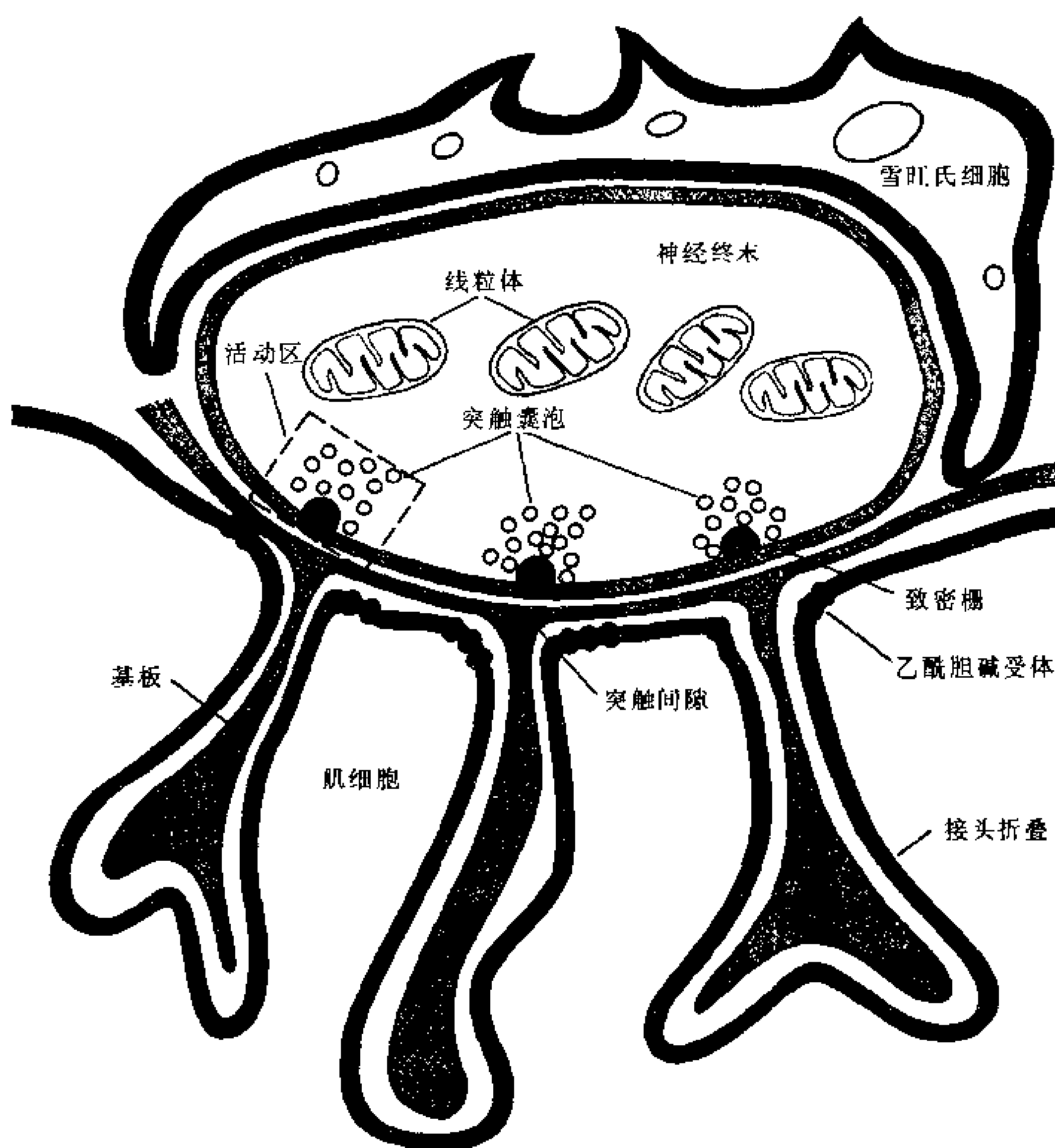


图 8-1 脊椎动物的神经肌肉接头示意图。

胞去极化，其机制将在第 10 章讨论。这一去极化被称为**终板电位**（end-plate potential, EPP）（图 8-2）。在通常情况下，终板电位的大小是数十毫伏，足以触发动作电位和肌肉随后收缩。然而，即使没有神经刺激，仍可用电极在肌肉内记录到一些小的去极化（图 8-2）。这些自发的去极化的幅度只有 0.5 mV 左右，但是它们在其他许多方面与由神经的刺激引发的较大的终板电位非常相似。尤其是，小的去极化的时程与终板电位的时程一致。此外，自发的去极化像终板电位一样，可被乙酰胆碱受体的拮抗剂如箭毒等所阻断（见第 10 章）。该电位也可以被防止乙酰胆碱被突触间隙处的乙酰胆碱酯酶水解的药物所延长。最后，突触前终末去极化时，这些小的去极化的频率增加。这些以及其他的发现表明，这些小的电位是由于来自突触前终末处的乙酰胆碱的少量自发和随机的释放所致。因此，这些小电位被命名为**小终板电位**（miniature end-plate potential, MEPP）。

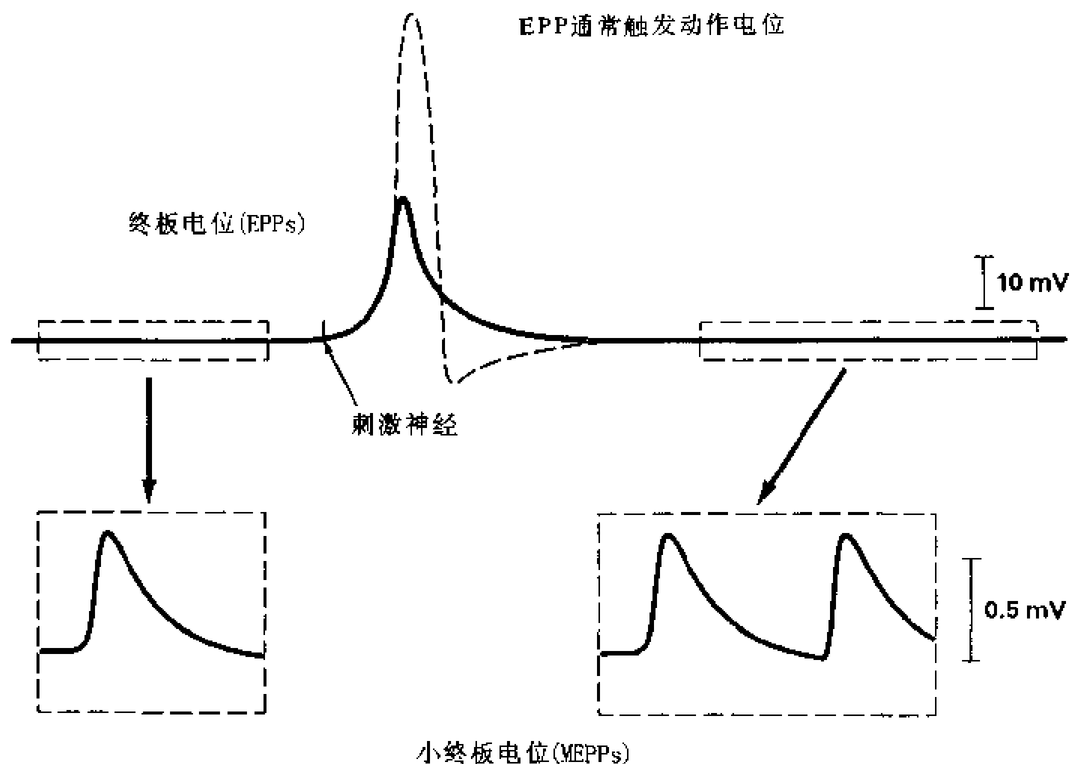


图 8-2 EPPs 和 MEPPs。一个肌细胞的膜电位记录。神经刺激诱发的 EPP 通常触发一次突触后动作电位。然而，当 EPP 的幅度下降或动作电位被阻断时，EPP 的时程与 MEPPs 相似。

EPP 由多发的 MEPP 组成　Katz 随后发现，刺激诱发的突触电位（即终板电位）是由大量的单一电位的同时出现引起的，每一个单一电位看起来都与 MEPP 相同。为了详细地分析突触电位，将神经肌肉接头浸浴于低钙高镁的溶液中。正如我们将要看到的那样，该溶液可减少刺激时递质的释放量。在这样特定的条件下，递质释放量减少到这样的程度，以致神经刺激诱发的突触后电位的平均幅度仅有几个毫伏，只比自发的 MEPP 大几倍。在这样的条件下，对神经的每次刺激所产生的终板电位没有固定的幅度。相反，有些刺激不能引起终板电位，有些引起的终板电位在幅度和时程上与单个 MEPP 相同，而另一些刺激引起的终板电位的幅度是单一 MEPP 的两倍或数倍（图 8 3）。当计数该实验中的不同幅度的终板电位的发生次数时，得到图 8-3 内的直方图。虽然每个 MEPP 的大小存在一些变异，但所诱发反应的峰值明显与单个 MEPP 峰值的整数倍相对应。

简单的计算显示，单个 MEPP 是由于突触间隙中大量的乙酰胆碱分子同时作用所引起的。现在我们知道，乙酰胆碱打开的通道的电导值大约为 40 pS，流经开放通道的电流约为 5 pA，接近肌肉静息电位。肌肉细胞膜的电阻使突触后膜在单个乙酰胆碱受体门控通道开放时能产生小于 1 μV 的去极化电位。由于释放到突触间隙的许多乙酰胆碱还没有与受体交互作用前就已经被水解，而且两个分子的乙酰胆碱才能使一个乙酰胆碱受体门控的通道开放（见第 10 章），可以推算出，大约 5000 个乙酰胆碱分子同时释放到突触间隙引起一个 MEPP。

在以后章节我们将会发现，许多因子能改变突触传递的强度。递质以量子释放的事

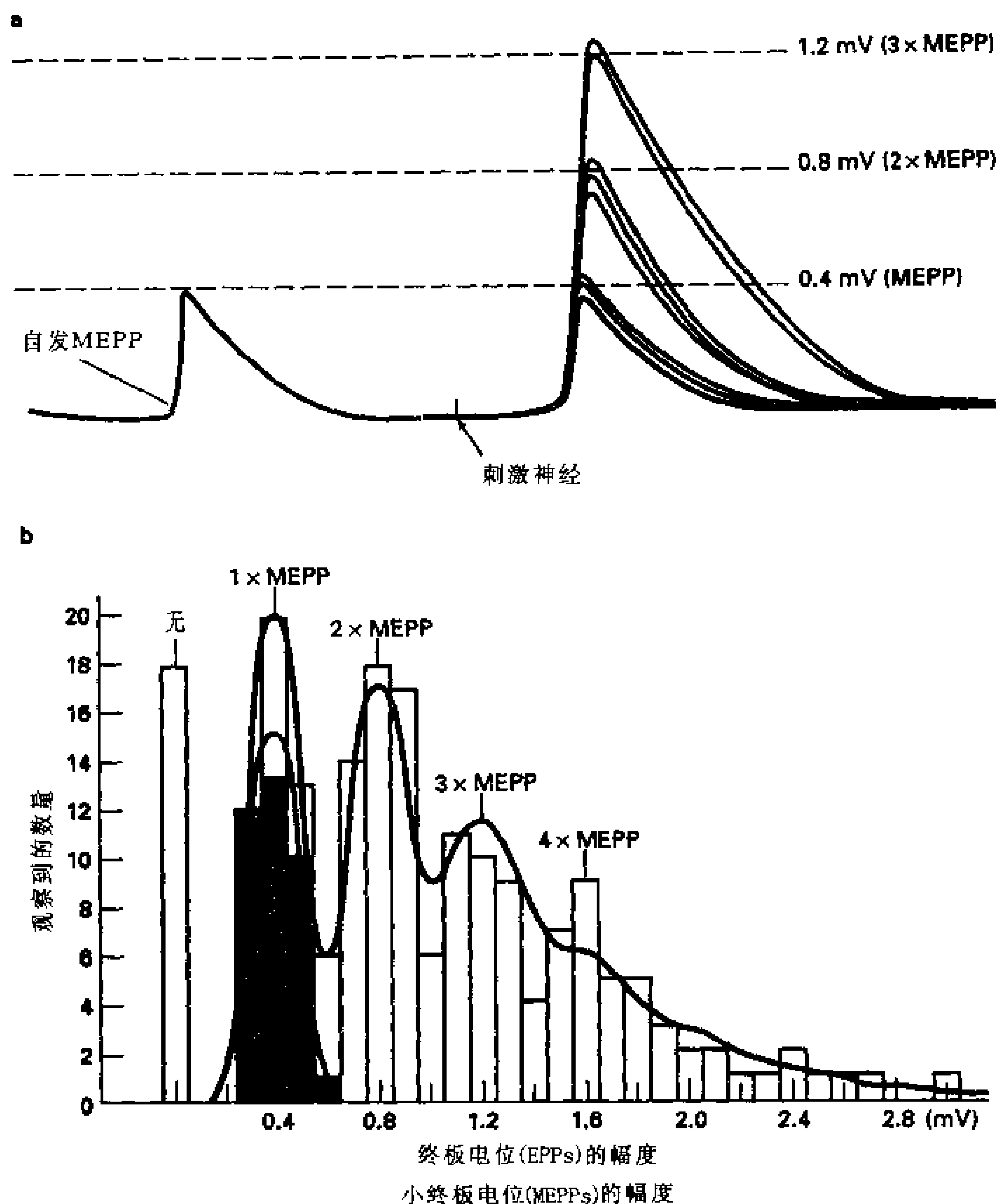


图 8-3 EPPs 由多个 MEPPs 组成。a：在递质释放量低的条件下，神经冲动诱发的 EPPs 的幅度是 MEPPs 的整数倍。b：由 Boyd 和 Martin（1956）用猫的神经肌肉接头所做的实验中，用直方图显示 EPPs 和 MEPPs 的幅度大小之间的关系。

实，使我们能够从递质释放量的变化，确定突触传递的强度是否发生了变化（胜于从突触后细胞对递质的敏感性的变化去确定突触传递强度的变化）。特别是，如果检测出刺激时释放的量子数量的变化，即可提示突触前终末发生了某种改变。因此，这种**量子分析**（quantal analysis）方法对研究那些可应用该测量法的少数突触的特性，是一种非常有用的技术。

突触传递时胞吐的形态学证据

在20世纪50年代，Katz及其同事提出，神经肌肉接头处的突触前终末释放的乙酰胆碱的包或量子与单个突触囊泡内含的乙酰胆碱的量相当。并进一步提出，甚至在静

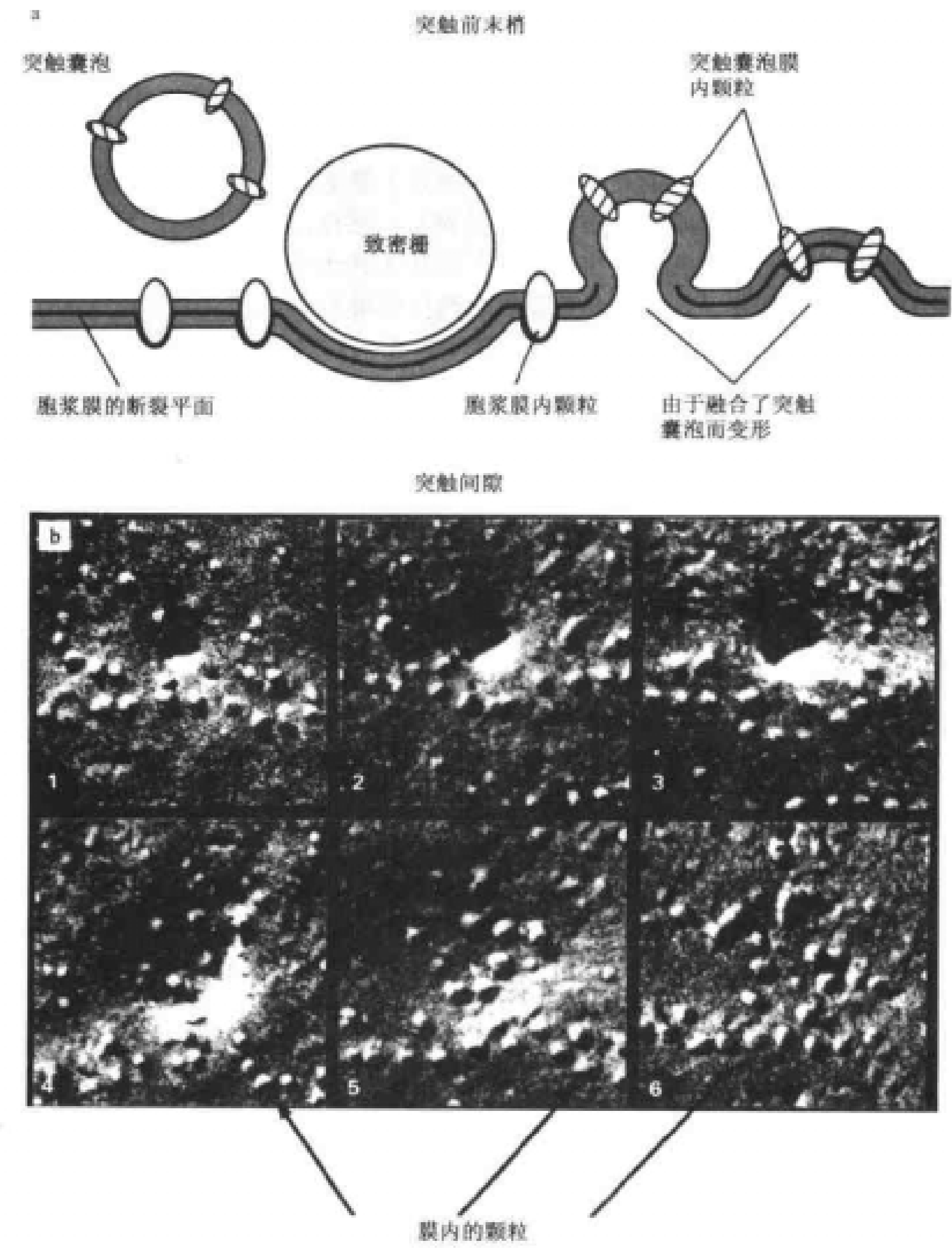


图8-4 神经肌肉接头处，应用冰冻蚀刻技术所得的胞吐证据。a：胞浆膜平面的变形由膜内颗粒、膜下结构和融合的囊泡组成。b：由Tom Reese及其同事完成的突触前膜冰冻蚀刻图像，显示一个囊泡胞吐过程的渐进过程（1-6）（Tom Rease惠赠）。

息状态下，囊泡偶尔与突触前膜融合，导致单个囊泡内容物的胞吐，并诱发突触后肌肉细胞产生一个 MEPP。突触前动作电位引起的去极化，极大地增加了囊泡胞吐的概率，导致大量囊泡的内容物同时释放。一个正常的终板电位由数百个突触囊泡的胞吐引起。然而，直接在神经肌肉接头处观察到胞吐现象却是在 20 年后，通过应用电子显微镜结合冰冻蚀刻技术观察到的（图 8-4）。

在前一章，我们看到用冰冻蚀刻技术观察到许多缝隙连接颗粒的排列。当这种技术应用于青蛙神经肌肉接头的突触前膜时，可发现由突触前膜下的致密栅引起的胞浆膜变形。在致密栅的两侧，成串排列着两列膜内颗粒（图 8-4）。人们普遍相信，这些颗粒是钙通道蛋白。图 8-4 显示的电子显微镜图像，是通过冰冻蚀刻技术，结合在刺激运动神经后的准确时间使终末速冻的技术获得的。在处于静息状态，或受到刺激后但还未开始释放递质的终末内，可观察到致密栅和两排颗粒。然而，在乙酰胆碱释放的一瞬间，可看到膜的进一步变形。这些新形成的“凹”被认为代表了突触囊泡与胞浆膜的融合。这些凹的存在有力地提示，递质的释放是通过胞吐作用发生的。

由于技术原因，当被释放的递质量子很少时，不可能刺激神经后直接比较量子的数目与由突触囊泡的胞吐在突触前膜上形成的凹的数目。然而，在可延长动作电位的时程，并极大地提高递质的释放量的钾离子通道阻断剂 4-氨基嘧啶存在时，能刺激神经肌肉接头并直接比较量子与凹的数目。在这样的条件下，乙酰胆碱的释放量确实与冰冻蚀刻图上观察到的凹的数量吻合。

突触的递质释放依赖于钙

自从 Sidney Ringer 在 19 世纪所进行的工作，我们已经知道细胞外液的钙离子是神经肌肉接头和其他突触维持正常功能所必需的。在大部分化学突触中，去除细胞外液中的钙会阻止神经受兴奋所引起的递质释放。相反，提高细胞外液的钙浓度，通常会增加神经递质的释放量。

枪乌贼巨突触　研究神经递质释放的主要困难，是大部分脊椎动物的突触前终末都很小（包括形成神经肌肉接头的终末），这妨碍了对终末的电生理记录。枪乌贼的星状神经节的巨突触不存在这一问题（图 8-5）。这一巨突触用于逃避行为。当受到刺激时，这一突触通路触发乌贼将囊中的水排出，以推动身体迅速离开危险源。软体动物的普通大小的数个神经元胞体，或哺乳动物的普通大小的许多个神经元胞体，可以很轻易地被巨突触的突触前终末所包绕（终末直径约 50 μm，长约 700 μm）。因此，两个或多个微电极可同时插入突触前终末内和突触后细胞内（图 8-5a）。正如神经肌肉接头的情况一样，突触后膜电位变化的幅度可用于递质释放量的直接测量。

对枪乌贼巨突触的研究工作证实并扩展了 Katz 在神经肌肉接头的发现，并明确证实了钙和电压依赖性钙通道在突触前动作电位引起的递质释放中的作用。例如，直接把钙离子注入突触前终末可引起该突触的递质释放。正如在许多神经元的胞体内一样，在这种突触的突触前终末内可以记录到电压依赖性钙电流（与大得多的电压依赖性钠电流和钾电流一起形成动作电位）。终末的一个动作电位的刺激通常可诱发释放出足够量的

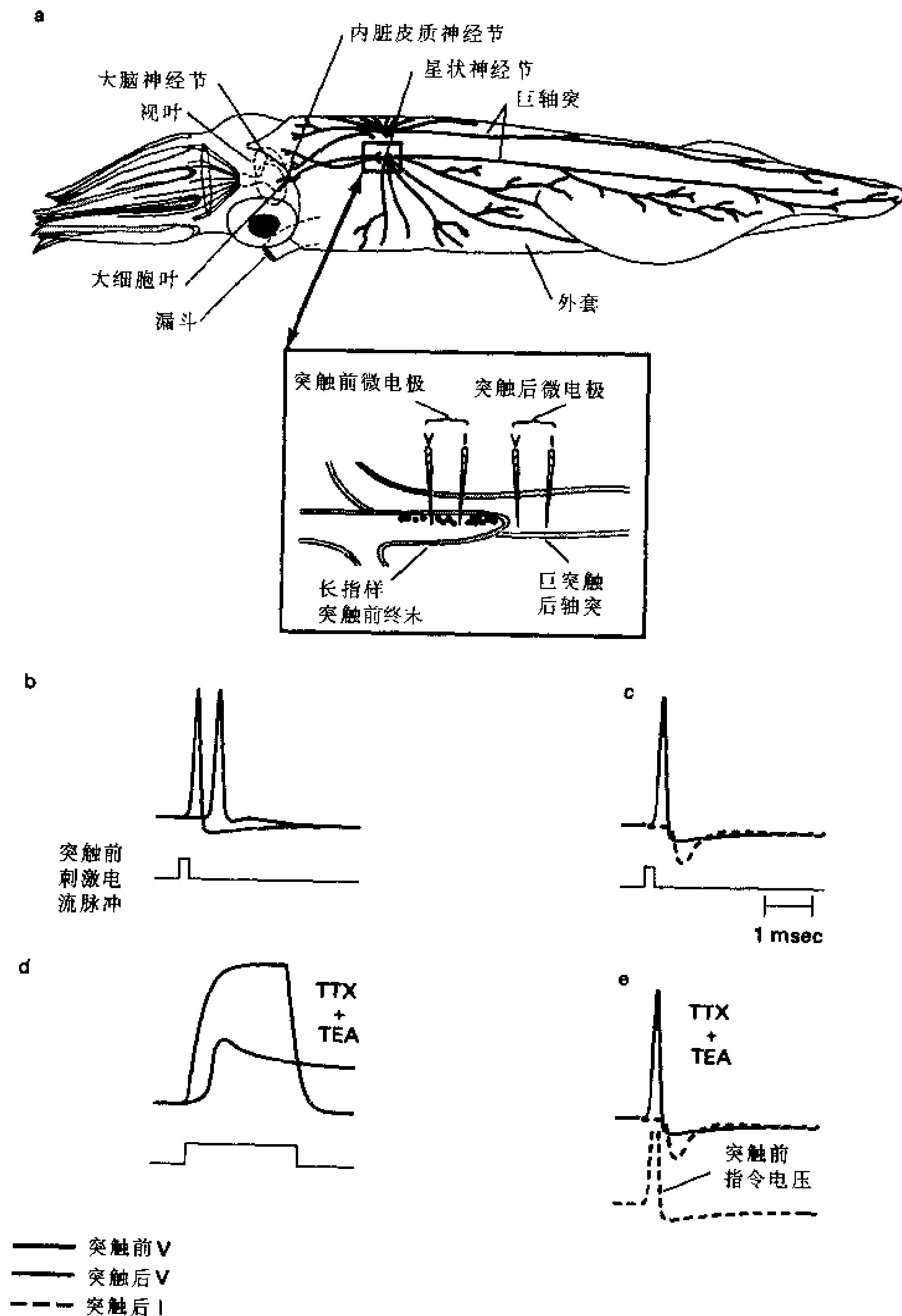
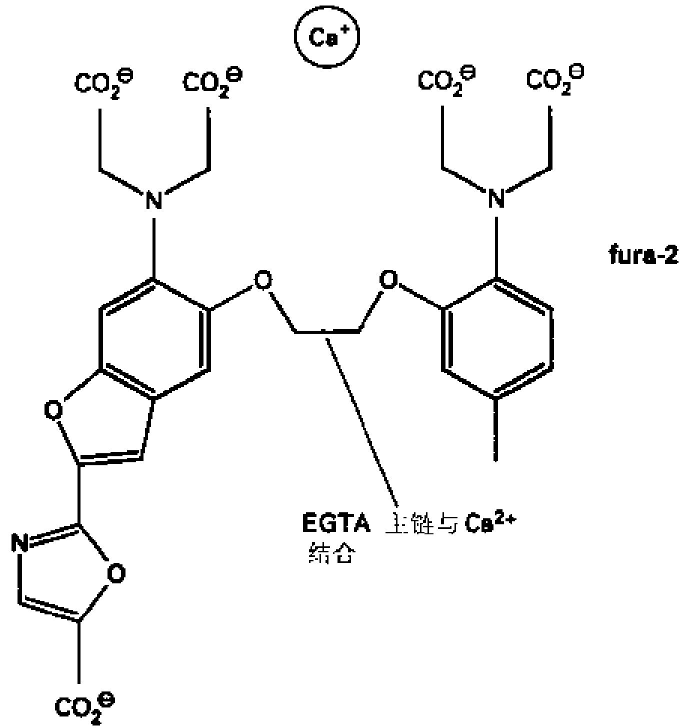
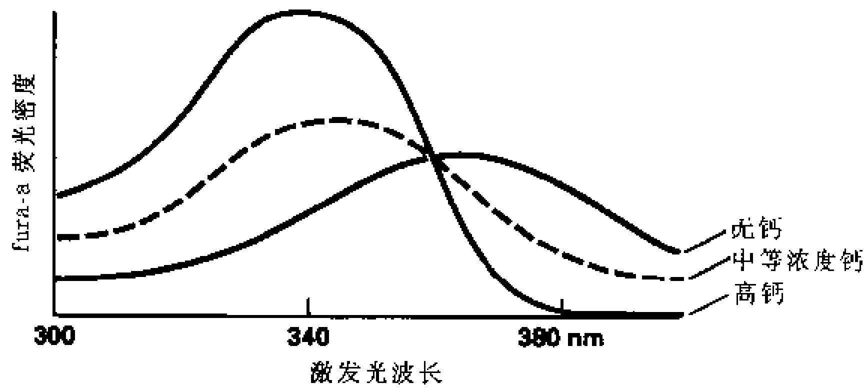


图8-5 枪乌贼的巨突触。a：巨突触在星状神经节中的位置。b，c，d，e：Bernard Katz 和 Ricardo Miledi，以及 Rodolfo Llinas 及其合作者在实验中所记录到的突触前和突触后反应。b：正常反应。c：电压钳制突触后轴突所记录到的突触后电流。d，e：突触前钠和钾电流被 TTX 和 TEA 阻断。d：由一个长的突触前去极化所诱发的长时程的突触后电位。e：在正常的动作电位之后给予一个突触前电压，引起正常的突触后电流。





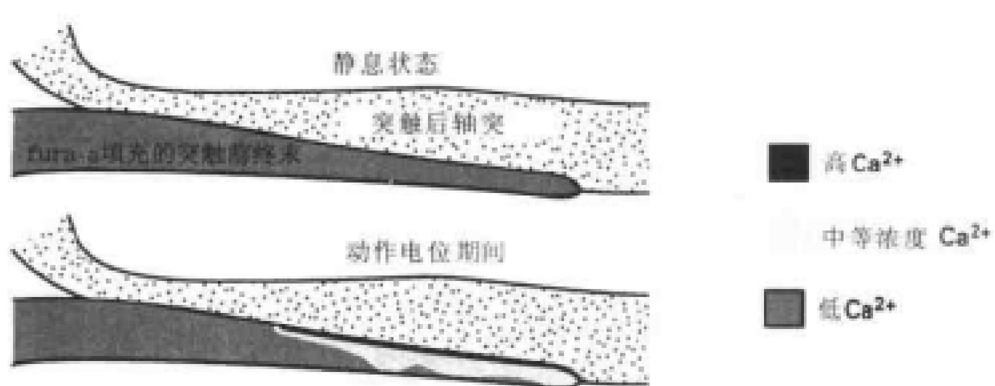


图 8-6 细胞内钙的测量。a：由 Roger Tsien 合成的钙指示剂 fura-2 染料的结构。。b：fura-2 荧光密度随钙浓度改变而改变（Grynkiewicz et al.，1985）。c：显示巨突触前末梢内由 fura-2 荧光测量的钙离子水平是如何在刺激过程中变化的（Smith and Augustine，1988）。

递质以使突触后神经元去极化达到阈值，并触发一次突触后动作电位（图 8-5b）。然而，如果突触后细胞被钳制在接近它的静息电位，然后刺激突触，可在突触后细胞内产生一内向电流（图 8-5c）。这个内向电流代表了流经突触后膜内被递质激活的离子通道的电流。

通过阻断突触前膜的钠通道和钾通道，可使钙电流成为突触前膜惟一的电压依赖性离子电流。这可通过在细胞外液中应用钠通道阻断剂 TTX，并把钾通道阻断剂 TEA 注入终末内而实现（见第 4～第 6 章）。在这种情况下，当突触前终末去极化时，突触后反应仍可记录到（图 8-5d）。当然，在有 TTX 和 TEA 时，突触前终末不会出现正常的动作电位。然而，当用电压钳在终末模拟产生动作电位时，突触后电流与正常的突触后反应完全一致（图 8-5e）。这表明正常的钠和钾电流不是神经递质释放所必须的，仅仅钙内流已经足够。

钙通道在释放区附近聚集　　枪乌贼终末钙通道的空间分布与递质释放位点比较吻合。这一观点的首次提出，是基于在突触前终末内记录到的钙电流比引导到该终末的轴突内所记录到的大得多的事实。然而，直接测量终末内的钙水平，需要将某种物质导入终末内测量钙浓度的变化。水母荧光素〔aequorin〕蛋白质首先被用于这一工作，它与钙结合时会发光。这种蛋白为神经传递时末梢内钙离子浓度升高提供了直接证据。后来，其他的钙指示剂染料被应用于这一目的，包括 Arsenazo Ⅲ 和目前广泛使用的染料 fura-2。fura-2 的结构与钙离子螯合剂 EGTA 相似（图 8-6a）。不同的是，它是一种荧光化合物，与钙离子结合后，激发光谱发生改变（图 8-6b）。

用一与电脑相连的荧光显微镜，可以获得递质释放时钙离子浓度变化的数字图像。图 8-6c 显示的是在枪乌贼巨突触中导入 fura-2 后的图像。在一短串动作电位爆发期间，末梢内钙离子水平就可升高。这种升高首先发生在与突触后纤维对应的活动区。在爆发中，一个极大的钙离子浓度梯度在末梢内形成。当刺激终止后，这个梯度消失。这类图像进一步表明，钙通道聚集在释放位点附近，这也在神经肌肉接头处经标记钙通道蛋白所证实。

钙依赖性递质释放的三个重要特性

电学测量和胞内钙测量得出了递质释放机制的三个重要结论：① 递质释放依赖于钙离子浓度的高次幂；② 递质释放对钙较对其他二价阳离子的敏感性要高；③ 钙离子的内流极迅速地引起递质释放。我们现在一一简要地讨论这些结论的证据。

递质释放需要结合几个钙离子　　正如前面所述，递质的释放依赖于细胞外钙。在低浓度的细胞外钙离子情况下，青蛙神经肌肉接头处的递质释放依赖于胞外钙离子浓度的四次幂。在钙离子电流和钙离子浓度的升高都可被直接测量的枪乌贼巨突触的实验表明，钙离子进入终末并不依赖于外界钙离子浓度的四次幂，但释放过程本身则依赖于细胞内钙离子浓度的高次幂（图 8-7a）。对这个发现最简单的解释就是递质释放前，终末的一些反应需要结合几个钙。

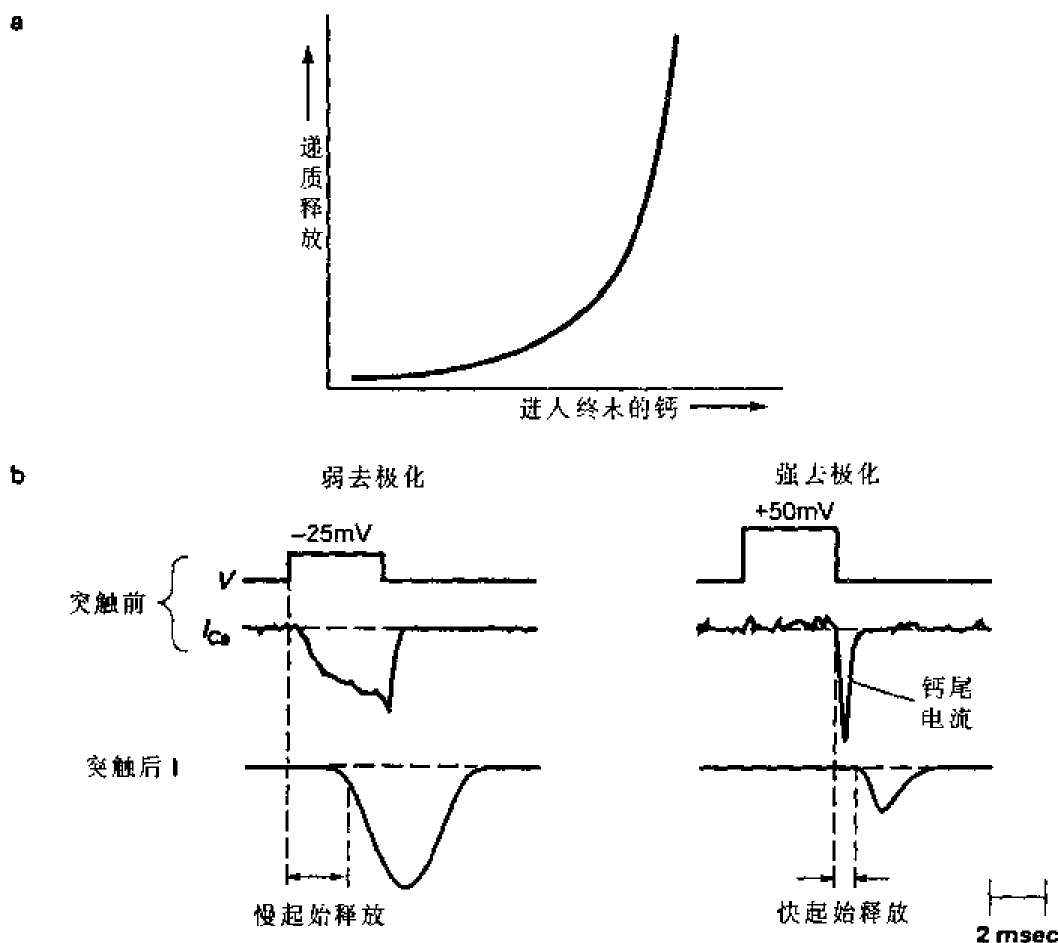


图 8-7 递质释放的钙依赖性。a：递质释放的急剧升高依赖于进入枪乌贼神经终末内钙离子的量。b：突触后反应在钙尾电流后迅速产生（自 Augustine 等，1985）。

释放机制与钙离子的相关程度超过其他二价阳离子　当胞外钙离子被其他二价阳离子所替换后，递质释放通常减少或消失。镍、镉、镁、钴和三价离子镧等离子是钙通道阻断剂，不可能期望它们来诱发释放。然而，钡离子和锶离子容易通过电压依赖性钙通道进入细胞内。即使对这些二价阳离子来说，它们所引起递质的释放量与等量的钙离子所引起的释放量相比要少得多。这类实验表明，就释放过程对离子敏感性而言，钙离子明显高于其他离子，其顺序是 Ca＞Sr＞Ba。

钙内流后递质迅速释放　当枪乌贼突触前终末去极化引起钙通道开放时，递质释放通常在数毫秒的延迟之后增加。然而，这并不能理想地度量钙激活的递质释放的速率，因为突触前钙电流的激活也需要数毫秒的时间。一种更直接地度量这个释放速率的方法是测量**钙离子尾电流**（calcium tail currents）。

在电压钳实验中，如果突触前终末从静息电位跳到一个接近于钙离子平衡电位的非常正的电位时，钙通道将由于去极化而开放。但在此电位下，钙离子并不进入终末，因为此时只有很小的或根本没有钙内流的驱动力（图 8-7b）。因此，在如此大幅度的去极

化条件下，并不发生递质释放。电压钳可快速地使膜电位跳回到静息电位，使得钙通道在关闭之前仍可在静息电位水平维持一定的开放时间。因为在静息膜电位时，钙离子进入细胞内的驱动力较大，钙离子因此可通过仍在开放的通道进入细胞内，在去极化冲动结束时，可测量到一个快通、瞬时的钙尾电流。这个尾电流伴随着递质释放，同时在突触后膜可记录到去极化电位。突触前终末发生钙尾电流与检测到突触后电位之间仅有 200 μs 的延迟（图 8-7b）。这意味着该突触的释放过程是如此迅速，以至于钙离子的作用似乎未经过复杂的多步生物化学反应就可发生。

钙离子进入的结构域　因为钙通道是不连续分布的膜蛋白，因此去极化后终末内钙离子浓度升高呈不均一分布。初始时的钙离子水平在钙通道所在区域的膜下较高（图 8-6c）。当考虑钙离子进入细胞的量与其诱发递质释放作用的关系时，考虑其空间分布的不均一性是非常重要的。

量化模型在预测钙离子通过钙通道进入突触前终末后的分布方式时是有用的。图 8-8a 显示在钙通道开放一毫秒左右时，胞内钙在钙通道口处的预期分布模式。计算出的

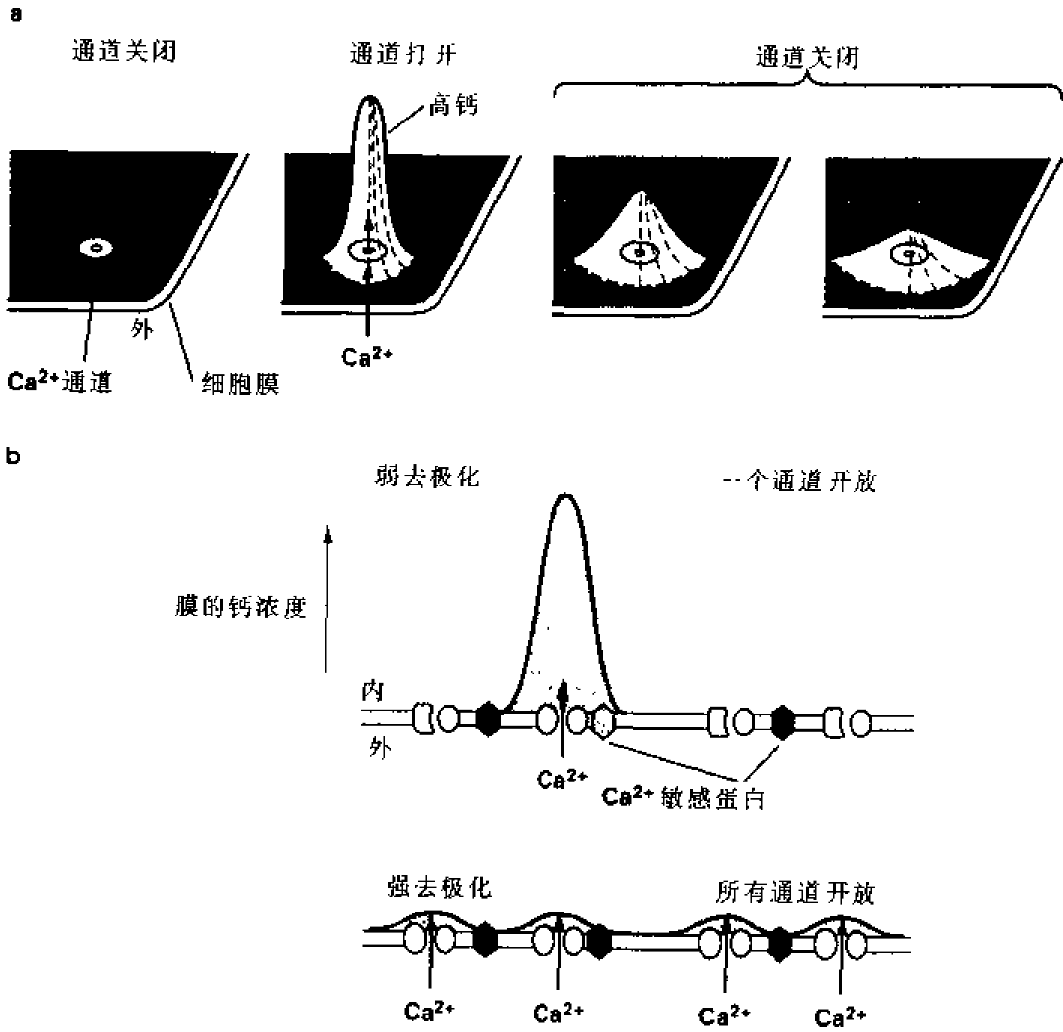


图 8-8　在钙通道口出现的高水平钙。a：钙离子在细胞内开放的钙通道口附近形成火山口样分布。b：强去极化与弱去极化时胞内钙空间分布的比较。

钙离子浓度在钙通道口处形成“火山口”样。在通道附近，钙离子浓度可高达 100 μmol/L（静息水平的钙离子通常在 0.1 μmol/L 左右）。随着钙离子的扩散，它的浓度随着远离通道而下降。因而通道口附近的蛋白质，包括神经递质释放位点，就比远离通道的蛋白质暴露于较高浓度的钙离子中。

这种钙离子结构域的设想，可在一定程度上预测递质释放。例如，它提示，相同量的钙离子在两个不同电压时进入细胞，理论上可对递质释放或其他钙敏感反应产生不同的影响。我们知道，当一个细胞渐进性去极化时，钙电流首先在钙通道开放时升高，之后在电压逐渐达到钙离子平衡电位时下降。图 8-8b 显示两个不同电压所产生的“净”钙内流相同时，钙离子浓度在终末内的空间分布。在第一种情况下，一个弱的去极化仅使一小部分钙通道开放，因为钙离子驱动力较高，钙在这些开放的通道口附近有很高的浓度。在第二种情况下，一个强的去极化引起几乎所有的通道开放，在这种较正的电位下，钙离子驱动力被极大地削弱了。在第一种情况下，钙离子局部浓度较高且空间分布不均，因此可以作用于靠近通道的钙敏感蛋白。在第二种情况下，虽然钙浓度水平更均一，但在每个位点上都不足以达到触发关键的钙激活过程所需的浓度水平。因此，钙通道和释放位点之间的相对位置对于有效地释放神经递质是非常重要的一个因素。

同突触可塑性：递质释放的易化、增强和压抑

当一系列动作电位传入神经终末时，每个动作电位引起神经递质的释放量并不总是恒定的。依赖于所研究的突触和刺激的频率，突触前终末的一串动作电位可引起递质释放量的渐进性下降或渐进性升高。这种由于终末以往的活动而引起递质释放量改变的特性，被称为**同突触可塑性**（homosynaptic plasticity）。同突触可塑性的三种主要形式是**易化**（facilitation）、**增强**（potentiation）和**压抑**（depression）。这与由其他细胞所引起释放量的改变是不同的。后一种现象被称为**异突触可塑性**（heterosynaptic plasticity），例子见第 18 章。易化、增强和压抑可发生在一种类型的突触上，导致从一串动作电位的初始阶段开始，所产生的神经递质释放的变化，出现复杂的时程。图 8-9 显示这些不同的同突触可塑性的时程。我们将依次对它们进行说明。

易化是指在一串持续数秒的简短刺激下递质释放量渐进性升高的现象（图 8-9）。易化产生的一种主要假设是：在动作电位之间，释放位点处的钙离子浓度来不及恢复到基础水平。这样，第一个动作电位之后的每个动作电位发生时，总有一小部分残留的钙离子保留在释放位点附近。残留钙水平不足以引起动作电位之间的递质释放。因为释放呈非线性依赖于钙离子浓度（图 8-7a），残留钙与下一个动作电位而内流的钙叠加引发了释放量的逐渐增加。易化的恢复极为迅速，刺激结束后几百毫秒内就可恢复正常。

增强是指紧随重复刺激突触后，一个动作电位引起递质释放量的增多（图 8-9）。与易化不同的是，增强是起始较慢（通常需要几秒钟的时间）且持续时间长。如一串高频刺激后（称作强直），一个动作电位诱发的释放量可超过先前的量，并持续数分钟。这种现象可在许多突触中观察到（包括神经肌肉接头等），被称作为**强直后增强**（post-tetanic potentiation，PTP）。虽然它的机制目前仍不清楚，但有证据显示，细胞内的钠浓度升高在 PTP 中起作用。在许多中枢突触，因串刺激的持续时间及强度不同，突触传

递增强可持续数十分钟乃至数小时、数天，称为**长时程增强**（long-term potentiation，LTP）。LTP 的机制与 PTP 不同，在不同的突触 LTP 的机制也不同。LTP 现象已成为研究神经系统记忆机制的细胞模型，我们将在第 18 章进一步讨论 LTP。

突触压抑是指在一串动作电位期间，递质释放量逐渐减少的现象（图 8-9）。这种现象常在突触接受一串高频刺激时，末梢递质被耗尽时发生。

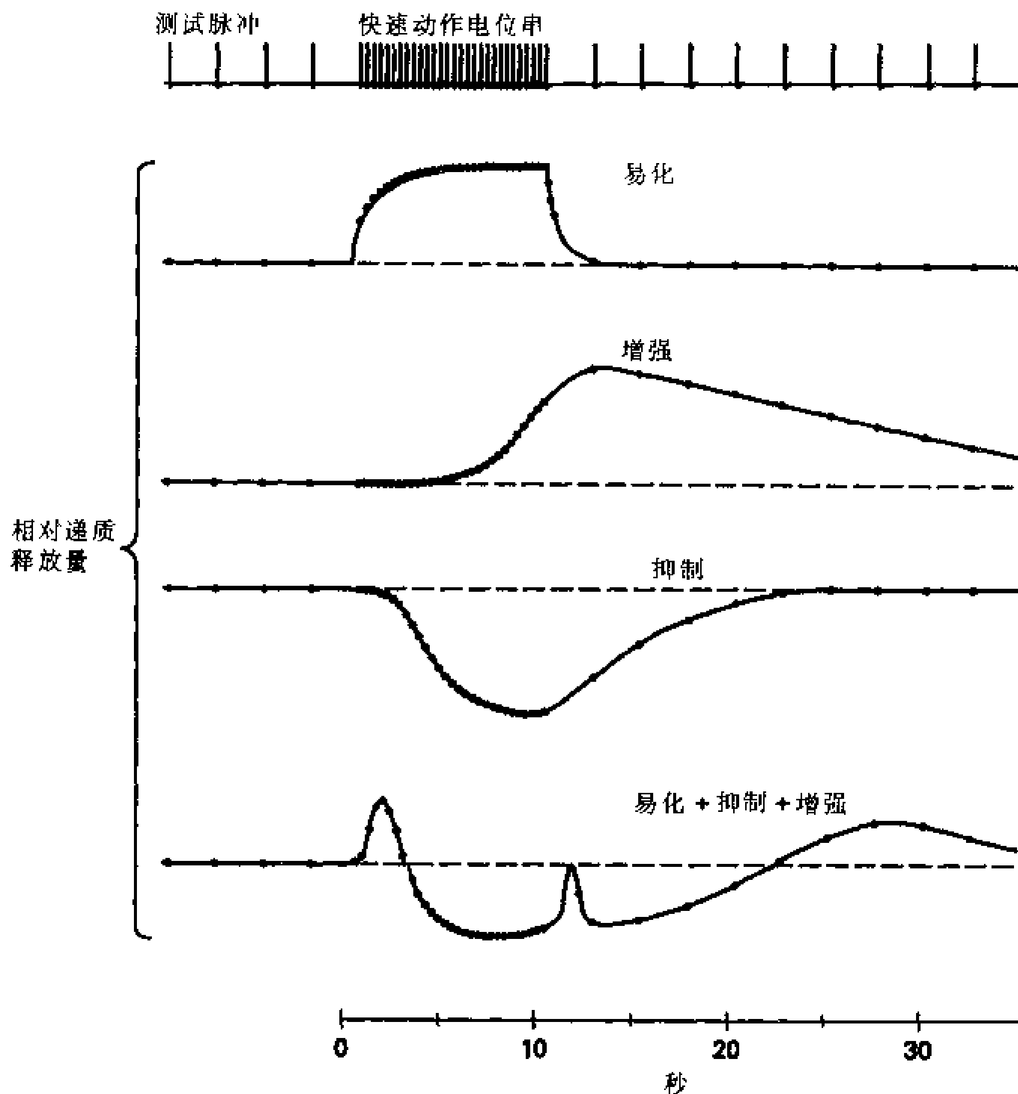


图 8-9 同突触可塑性。易化、增强和压抑的典型时程。

突触蛋白敲除

我们已描述了突触终末递质释放的一些动态特征。尽管在前面章节中对突触蛋白的生物化学有了深入了解，但是我们目前仍不了解大部分蛋白质是如何参与基本的释放过程，或者如何调制随时间而改变的释放的变化。目前研究某一特定蛋白质在递质释放过程中发挥作用的一种广泛应用的方法是**敲除**（knockout）鼠或果蝇中该蛋白质的遗传基

因。利用**同源重组**（homologous recombination），我们可以用一个无功能的突变基因来替换鼠的一个编码蛋白的基因。这种突变鼠就能产生缺乏某一种功能蛋白的鼠系。可以推测，如果某一重要的蛋白质被敲除，突变动物可能就无法正常发育，因此常采用一些实验技术使胚胎活得足够长以分离细胞进行研究。不管怎样，这种方法产生了一些令人振奋的结果。例如，敲除 rab3A（脑中 rab3 蛋白的主要形式）不阻断突触释放，似乎只加速重复刺激突触时突触压抑的速率（图 8-10）。与此类似，敲除泡融蛋白 I（这类分子的两种主要形式之一），不减少突触诱发的递质释放，但会改变动作电位传入后的递质释放时间性。

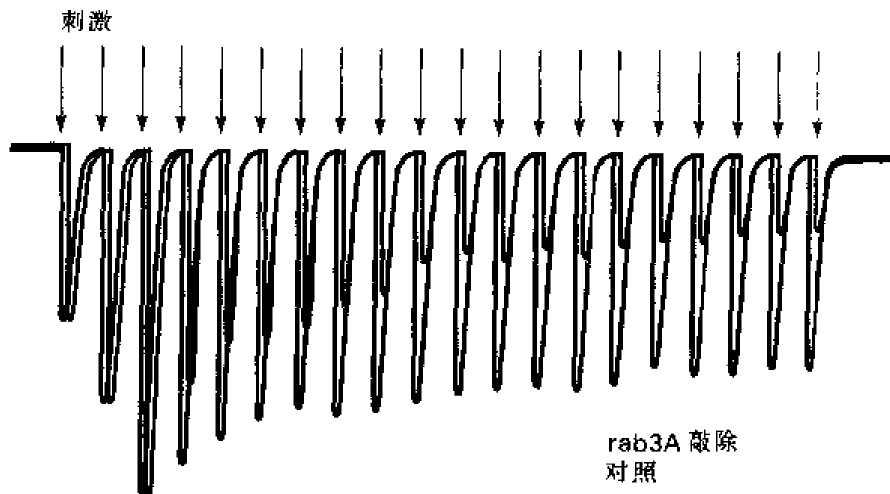


图 8-10 rab3A 蛋白的基因敲除对突触电流的影响。突变动物的突触在接受一串刺激后，迅速出现突触压抑（Geppert 等，1994）。

一种替代突触蛋白基因敲除技术的方法是在枪乌贼巨突触末梢中注入特定突触蛋白质的功能阻断剂。例如，注入了 GTP 类似物- GTPγS 不可逆地阻断了递质释放。这种类似物能与 rab3 蛋白或其他 GTP 结合蛋白不可逆地结合，因此，突触囊泡循环被抑制(图 7-14 和图 7-15)。同样，注射泡融蛋白分子的一个小片段，通过影响泡融蛋白与其他蛋白质的结合而阻断递质释放。但是，通过比较注射实验和基因敲除实验的结果，仍未能给出一幅统一的图像。这可能有几个原因。首先，在基因敲除实验中，其他突触蛋白的水平可能发生了代偿性变化；第二，并不是所有的突触都相似。本章只是突出说明了两种非常特殊的突触，即枪乌贼巨突触和神经肌肉接头。我们对脊椎动物中枢神经系统中那些较小的、难以检测的突触仍知之甚少。而且，对突触接头处神经肽的释放机制研究得仍不够充分。在这些突触中，很有可能有更缓慢的、更完美精密的生化过程调节着递质的释放。

钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶与神经递质释放

虽然我们对神经递质释放过程中的化学活动仍知之甚少，但有证据显示，一种被称作多功能钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶在调节释放中起作用。我们已经知道突触接头处

神经递质的释放是如此的迅速，因而不可能由复杂的酶反应介导。因此，这种酶很可能不直接参与触发释放，但可决定伴随每个动作电位的递质的释放量。我们先介绍一下这种酶的特性，然后描述提示它在释放过程中的作用的证据。

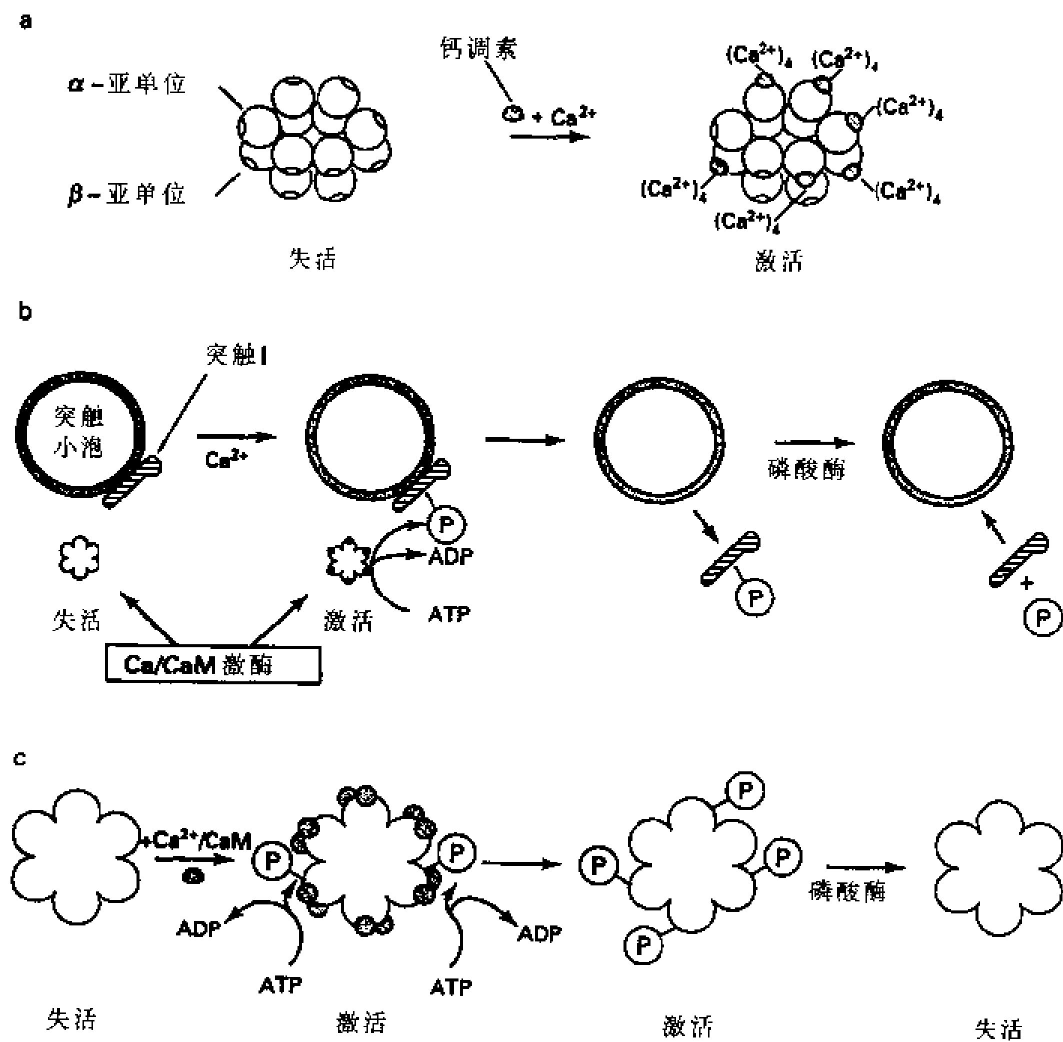


图 8-11 钙/钙调蛋白依赖性蛋白磷酸化。a：Ca^{2+}/Cam 激酶 II 的激活。b：突触蛋白 I 的磷酸化。c：Ca^{2+}/Cam 激酶 II 的自动磷酸化。

蛋白激酶　在细胞中有一些负责把 ATP 的一个磷酸基转移到多种蛋白质上的酶，被称为**蛋白激酶**（protein kinase）。蛋白质的磷酸化改变了蛋白质的电荷数（磷酸盐为负电荷），也改变了它的三维构象，因而也影响磷酸化蛋白质的生物学活性（详细的讨论见第 11 章）。可以通过将 γ-末端磷酸基被放射性标记的 ATP 和神经组织匀浆一起孵育的方法来测量蛋白激酶的活性，放射性标记的磷酸基转移到特定的蛋白质能够轻易地被检测到。如钙离子也被加到匀浆中，会明显促进磷酸基与某些蛋白质的结合速度。当加入钙调蛋白后，也发现了同样的现象。钙调蛋白是在所有真核细胞内发现的一种小分子钙结合蛋白（16.7kDa）。钙依赖性蛋白质的磷酸化是由几种不同的蛋白激酶介导的，其中一种是多功能钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶。这种酶是被钙和钙调蛋白调节的无数

细胞活动中的一员。它也被称为钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 II，常被缩写为 Ca^{2+}/Cam 激酶 II。

Ca^{2+}/Cam 激酶 II　Ca^{2+}/Cam 激酶 II 在大部分细胞中均有发现。在神经系统中特别丰富，占蛋白质总量的 0.5%～1.0%，对一种酶来说，这个浓度是异常的高。它是一种很大的、多亚单位的复合体，由两种不同的亚单位 α 和 β 组成，分子量分别为 50 000和 60 000。有活性的酶似乎有 12 个亚单位（图 8-11），α 和 β 亚单位的比例在不同的细胞中不同。例如，在一些细胞中酶完全由 α 亚单位组成，而在其他细胞中较大的 β 亚单位数目占优势。

随着细胞内钙离子浓度的升高，钙离子与胞质中的钙调蛋白结合。钙/钙调蛋白复合物于是结合到 Ca^{2+}/Cam 激酶 II 的亚单位上，酶被激活了，并能使磷酸基从 ATP 转移到多种不同的蛋白质上。它的一种最适底物是**突触蛋白** I（synapsin I）（见表 7-2）。突触蛋白 I 除与囊泡结合外，还与细胞骨架的肌动蛋白结合，将囊泡与骨架连接起来。已经发现，当突触蛋白 I 被 Ca^{2+}/Cam 激酶 II 磷酸化后，它与囊泡和肌动蛋白的结合较未磷酸化前减弱（图 8-1b）。

Ca^{2+}/Cam 激酶 II 的一个有趣特性是可以磷酸化它自己，被称为**自身磷酸化**（autophosphorylation）。当自身磷酸化发生时，酶仍保持活性，但变得不依赖于钙和钙调蛋白，直到被**磷蛋白磷酸酶**（phosphoprotein phosphatase）将磷酸基切除后，才又恢复对它们的依赖性。自身磷酸化可以使 Ca^{2+}/Cam 激酶 II 的活性在钙离子浓度恢复到基础水平后仍维持相当长的时间（图 8-11c）。

Ca^{2+}/Cam 激酶 II 与枪乌贼巨突触的递质释放　在神经末梢，Ca^{2+}/Cam 激酶 II 主要分布于突触囊泡膜的表面，并与突触蛋白 I 结合。它在调节神经递质释放中的作用的证据源于：当把它注射到枪乌贼巨突触末梢后可导致神经递质释放增加，但并不改变突触前的钙电流的幅度，提示注射这种酶提高了递质胞吐的效率（图 8-12）。Ca^{2+}/Cam 激酶 II 在枪乌贼巨突触上的上述作用可能是通过磷酸化突触蛋白 I 或某一相关分子而产生的。注射非磷酸化的突触蛋白 I 到前突触末梢可降低或阻断释放，而注射已被 Ca^{2+}/Cam 激酶 II 磷酸化的突触蛋白 I 则对释放无明显作用。对此现象，人们已经提出一种假设，即当静息条件下（如细胞内钙处于低水平），去磷酸化的突触蛋白 I 与众多小突触囊泡紧密结合，将囊泡与细胞骨架连接在一起，因而阻止了囊泡与浆膜的融合。一旦突触蛋白 I 被 Ca^{2+}/Cam 激酶 II 磷酸化，它就与囊泡解离，使囊泡易于进行胞吐。

用基因敲除的方法去除大鼠主要的突触蛋白 I，对突触传递似乎不会产生明显的影响，但会增强突触易化，提示突触蛋白 I 主要起调节作用，而不是释放过程的必需因素。但如前所述，这种基因处理可能导致其他蛋白质的代偿性改变。例如，突触囊泡蛋白中与突触蛋白 I 作用相似的还有突触蛋白 II。这种蛋白质在结构上与突触蛋白 I 相似，但不被 Ca^{2+}/Cam 激酶 II 磷酸化。

因为 Ca^{2+}/Cam 激酶 II 的含量如此丰富，分布又如此广泛，因此，它可能有许多与分泌无关的其他作用。例如，在突触后神经元紧靠神经递质受体下的区域，它是一种主要蛋白质，但其作用仍不清楚（第 18 章将讲述它的一种可能的作用）。另外，在许多

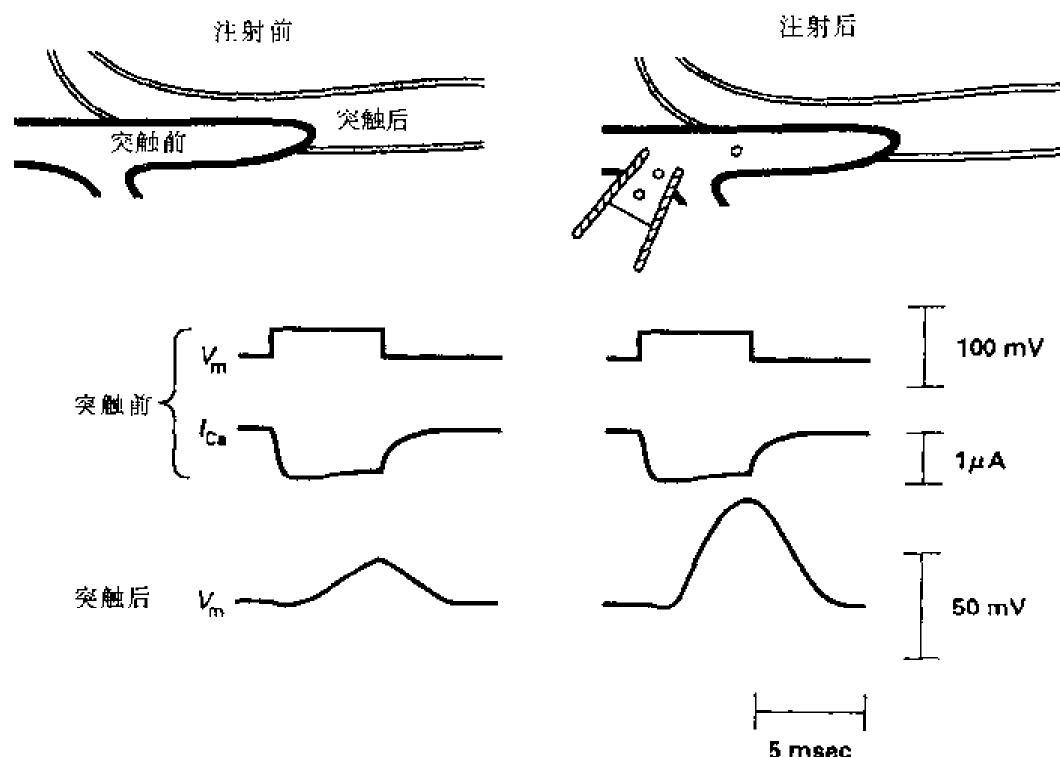


图 8-12 向枪乌贼突触前末梢内注射 Ca^{2+}/Cam 激酶 II。在 Paul Greengard 和 Rodolfo Llinas 实验室合作的实验中发现，注射 Ca^{2+}/Cam 激酶 II 引起递质释放增加，结果测量到突触后膜去极化增加（Llinas 等，1985）。

突触上，递质释放也可被另一种钙依赖性蛋白激酶——蛋白激酶 C（PKC）的激活所调控，这种酶不磷酸化突触蛋白 I，因此它可能通过与 Ca^{2+}/Cam 激酶 II 不同的机制发挥作用。

小结

如上所述，枪乌贼星状神经节和青蛙神经肌肉接头这两类特殊的突触，为我们深入了解神经递质从突触前末梢的释放发挥了重要的作用。对快速的突触传递的研究发现，神经递质是以小包或量子释放的，它可能与单个突触囊泡的胞吐相对应。随着一次动作电位的传入，递质释放与经电压依赖性钙通道进入的钙离子在空间及时间上密切相关。重复刺激时，递质释放量发生改变。目前我们对诱发神经递质释放的机制和调制释放的因子仍了解很少。而且，活动区处的小突触囊泡递质的释放与那些大的致密芯囊泡神经肽的释放，在性质上可能有本质不同。将生物化学技术鉴定突触囊泡和释放位点的组分，与生理学技术在特殊的突触中检测这些组分的作用相结合，会有助于进一步阐明释放过程的机制。

9

神经递质与神经激素

在前两章中我们看到，神经元对多种化学物质的分泌，在很大程度上是一台设计精密和被复杂地调节的机器。为什么神经细胞如此不辞辛苦呢？虽然细胞间直接的电活动联系也起到基本的作用（见第7章），但是中枢神经系统内神经细胞之间的通讯多数是由化学信号传递介导的。此外，来自感觉器官的信号传入到神经系统，以及神经系统传出信号使肌肉收缩，其间的信息传递也需要细胞外化学信使的介导。在这一章我们将系统地讨论不同种类的**神经递质**（neurotransmitter）和**神经激素**（neurohormone），其中一些我们已经在别的章节中遇到过。接下去的一章将讨论位于靶细胞上可识别和结合这些物质的**受体**，以及参与将细胞外的化学信号转变为靶细胞的相应反应（通常为电反应）的**转导机制**（transduction mechanism）。

什么是神经递质及神经激素？

哪些神经活性物质是递质，哪些是激素呢？传统上认为突触的神经递质是被释放到解剖学上有严格定义的**突触间隙**（synaptic cleft），并影响一个或几个相邻细胞的活动的物质（图9-1）。经典的神经递质是乙酰胆碱，它首先被证明是一种在心肌和骨骼肌中介导神经到肌肉的突触传递的化学物质（见第1章），后来发现它也是一种神经元到神经元的重要递质。相比之下，激素被定义为在组织中合成和释放，通过血液到达其他器官（常常是远处的），从而影响这些器官的活动的物质（图9-1）。另一个常常用于区分神经递质和神经激素的标准是时间性：递质被认为引起靶细胞的迅速出现和可迅速恢复的反应；而激素的作用较缓慢，持续时间长得多。

因为激素的合成和分泌在诸如肾上腺和性腺等器官中已研究得很透彻，所以在30年前发现神经系统也可以合成和释放作用于相距很远的器官的激素——**神经激素**时，难免令人感到惊奇。传统的神经激素为相互关系密切的含九个氨基酸的肽类：**催产素**（oxytocin）和**加压素**（vasopressin），它们①由下丘脑的所谓**大细胞神经元**（magnocellular neuron）合成，②沿这些神经元的轴突运输到垂体后叶被释放，以及③沿血流扩散，分别调节平滑肌收缩和水平衡。

最近有证据表明，催产素、加压素及其他神经活性肽也可以起局部递质样作用。除被分泌进入血液外，它们也可能被分泌于突触，取代甚至与经典的神经递质一同作用。而且，目前我们已经知道，一些经典的神经递质也可能起作用缓慢、作用持续时间长，实际上它们可能被释放入血流，像真正的激素一样起作用，而很多肽类“激素”则可能对靶细

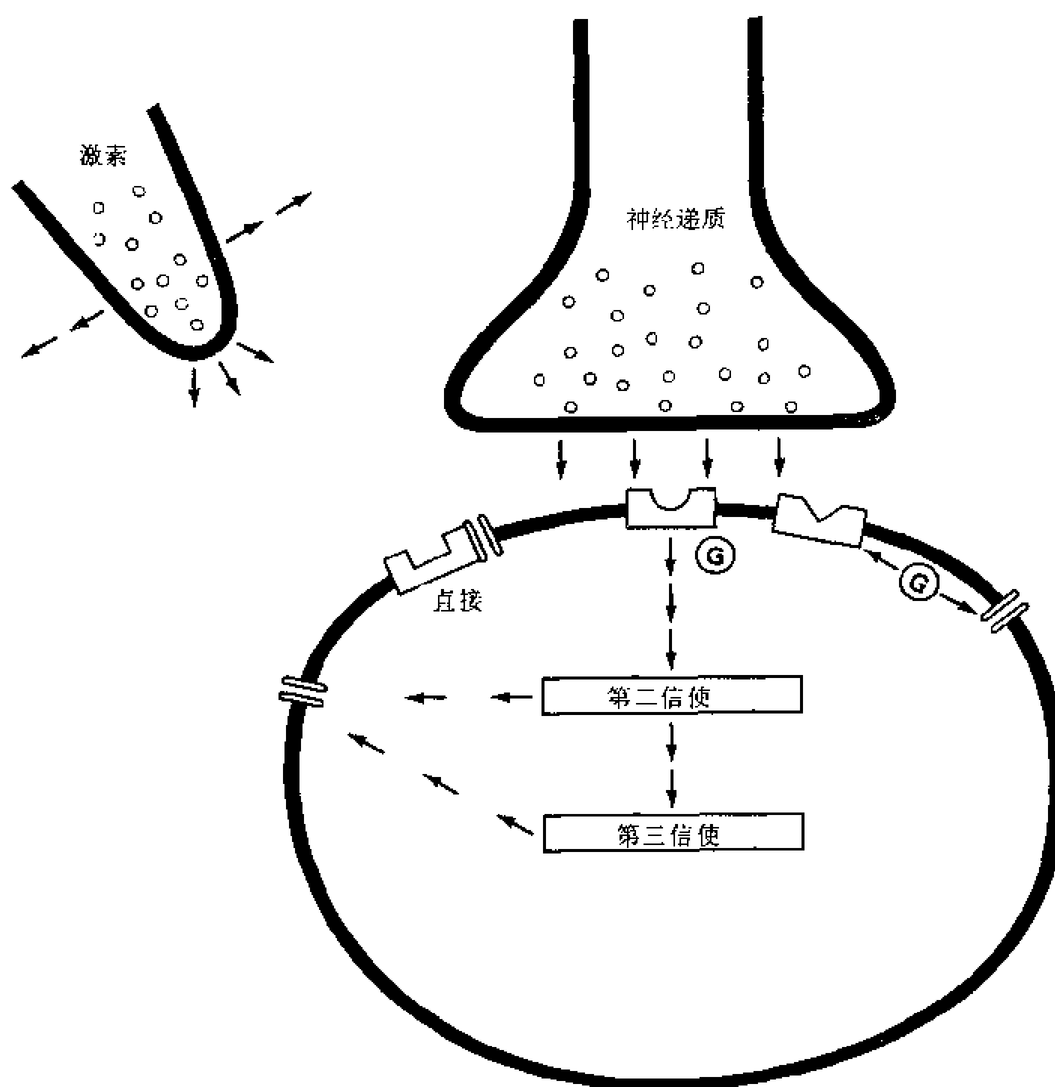


图 9-1 细胞间通讯。本章将重点介绍在神经系统中介导多数细胞到细胞的通讯的神经递质和激素、

胞产生快速的"递质样"效应。换句话说，激素和递质的经典区分越来越过时了。一种物质对某个人来说是递质，而对于另一个人来说却是激素。因此，用其他的标准来鉴定神经活性物质是递质还是激素也许更适用，例如用它们引起靶组织反应的性质和机制作标准(见第 10 章和第 11 章)。

乙酰胆碱

第一个被认为是神经递质的化学物质是**乙酰胆碱**（acetylcholine），它的结构如图 9-2 所示。20 世纪初，人们就已经知道乙酰胆碱可影响神经元和肌肉细胞的生理特性。到了 20 年代，在神经元与心肌、骨骼肌和平滑肌之间的**神经肌肉突触**（neuromuscular synapse），以及中枢和外周神经系统的大量神经元间突触中，乙酰胆碱被证明是一种递质。在此刻回顾第一个清楚地证明乙酰胆碱对突触传递的化学介导作用的实验——即 Otto Loewi 于 1921 年发表的经典双心实验（见图 1-6），具有指导性意义。因为这是一个如此完美的**生物测定**

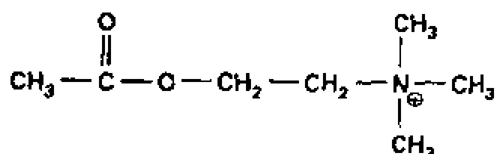


图 9-2　乙酰胆碱的化学结构。

(bioassay）的典范：运用生理反应测定生物活性化合物。生物测定仍然是神经药理学家鉴定和定量那些仍无足够敏感或特异的化学测定方法的神经活性物质的必要工具。

合成和释放　与我们在下面将要讨论的其他神经递质和神经激素不同，乙酰胆碱不是简单地是密切相关的一类化合物的一个成员，而是具有独特的性质，从而可把乙酰胆碱本身归为一类。乙酰胆碱是在神经末梢内由乙酰辅酶 A 和胆碱通过**胆碱乙酰转移酶**（choline acetyltransferase）催化合成的（图 9-3）。虽然乙酰辅酶 A 和胆碱是所有细胞内的常见代谢产物，但是胆碱乙酰转移酶不是普遍存在的（因而乙酰胆碱也不是普遍存在的）。事实上，如果一个神经元内含有胆碱乙酰转移酶，即可把该神经元定义为胆碱能神经元。乙酰胆碱被包裹在突触囊泡内（见第 7 章），动作电位到达神经

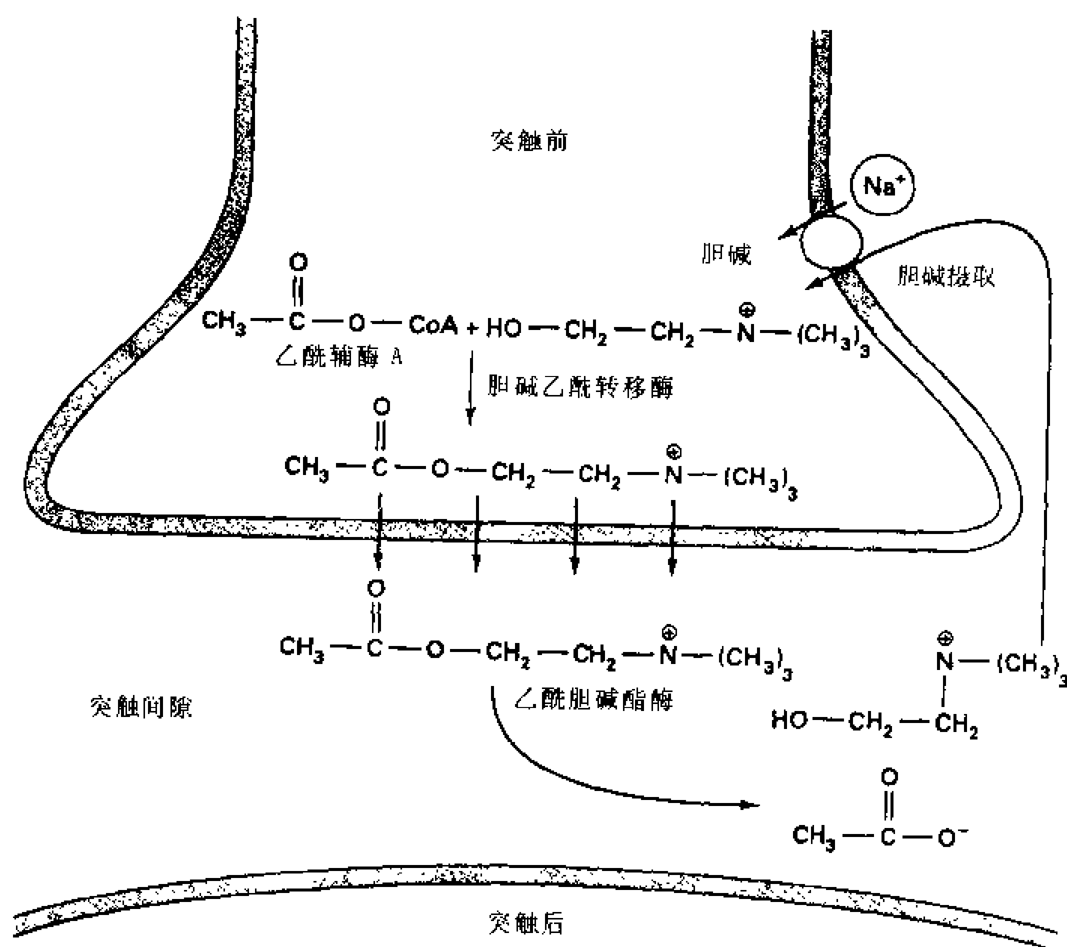


图 9-3　乙酰胆碱的合成、释放和降解。乙酰胆碱是在胆碱乙酰转移酶的作用下由胆碱和乙酰辅酶 A 合成的，释放后即被乙酰胆碱酯酶迅速降解为胆碱和乙酸，胆碱可以通过一种钠偶联的胆碱运输系统被末梢摄回。

末梢后，通过胞吐作用被释放。然而，并不是神经末梢内的所有乙酰胆碱均贮存于囊泡中。一些乙酰胆碱存在于胞浆中，有证据表明，在某些突触内，乙酰胆碱可直接从这些胞浆的储存处被释放。

降解和再合成　　乙酰胆碱被释放到突触间隙后可与至少两种不同的受体分子结合，从而在不同的靶细胞产生不同的反应（见第10章）。但是，神经递质在突触间隙内不可能长期处于高水平。释放的乙酰胆碱被效率很高的水解酶——乙酰胆碱酯酶——分解为胆碱和乙酸（图9-3）。突触间隙内的乙酰胆碱酯酶浓度很高。不仅如此，它的催化效率（每秒水解$10^4 \sim 10^5$个底物分子）是已知的最快速的酶之一，这就保证乙酰胆碱释放后在突触间隙的浓度很快降低。然后大多数分解生成的胆碱被重新摄入神经末梢再用于合成乙酰胆碱。胆碱能神经末梢含有高亲和力的Na^+依赖性胆碱摄入系统（图9-3），它使得末梢内胆碱浓度较高，且其活动可能对乙酰胆碱的合成有限速作用。以后将会谈到，对特定的神经递质或它们的前体及代谢物特异的Na^+依赖性摄入系统（又称**转运体**，transporters）在神经末梢是普遍存在的，它对于调节可供释放的神经递质的量是必要的。

胺类神经递质

肾上腺素和去甲肾上腺素　　在乙酰胆碱被Loewi等人确定为外周**副交感**（parasympathetic nervous system）神经如迷走神经的化学递质时，其他神经药理学家正在探讨**交感神经系统**（sympathetic nervous system）——外周**自主神经系统**（autonomic nervous system）的另一组成部分——中突触传递的特性。判定一个特定的化合物是否是真的生理学上的递质物质，必须满足一组经典的标准。**去甲肾上腺素**（norepinephrine）（图9-4）很早就被证明为交感神经的神经递质，它在下列方面符合神经递质的全部标准：

（1）它在交感神经末梢合成、且以高浓度贮存于交感神经末梢；

（2）它在交感神经受刺激时被释放；

（3）在靶器官应用外源性去甲肾上腺素可模拟内源性递质的作用。

此外，阻断刺激交感神经所诱发的反应的药理试剂也能拮抗外源性去甲肾上腺素对交感神经系统的作用。去甲肾上腺素可与突触后细胞上几种不同类型的**肾上腺素能受体**（adrenergic receptor）结合，这些受体可根据它们的药理特性以及它们将神经递质的信号转导为靶细胞反应的机制的不同来区分（见第11章）。

由于技术上的原因，要证实去甲肾上腺素在中枢神经系统中起神经递质的作用要困难得多，但去甲肾上腺素是中枢神经系统内的神经递质这一点目前已被广泛接受。目前已知，使用去甲肾上腺素的脑内突触多数来自其胞体位于**蓝斑**（locus ceruleus）核内的神经元，蓝斑是位于中脑内的一簇仅有数千个神经元的核团。

肾上腺素能突触使用去甲肾上腺素或其N端甲基化的衍生物肾上腺素作为神经递质（图9-4）。前面所述的神经递质与激素之间的区别的模糊性，甚至也存在于这个最经典的肾上腺能的传递。尽管大多数肾上腺素能突触以去甲肾上腺素为神经递质，但肾上腺素在肾上腺髓质的**嗜铬细胞**（chromaffin cell）中合成并以高浓度贮存，并被释放入血，作为激

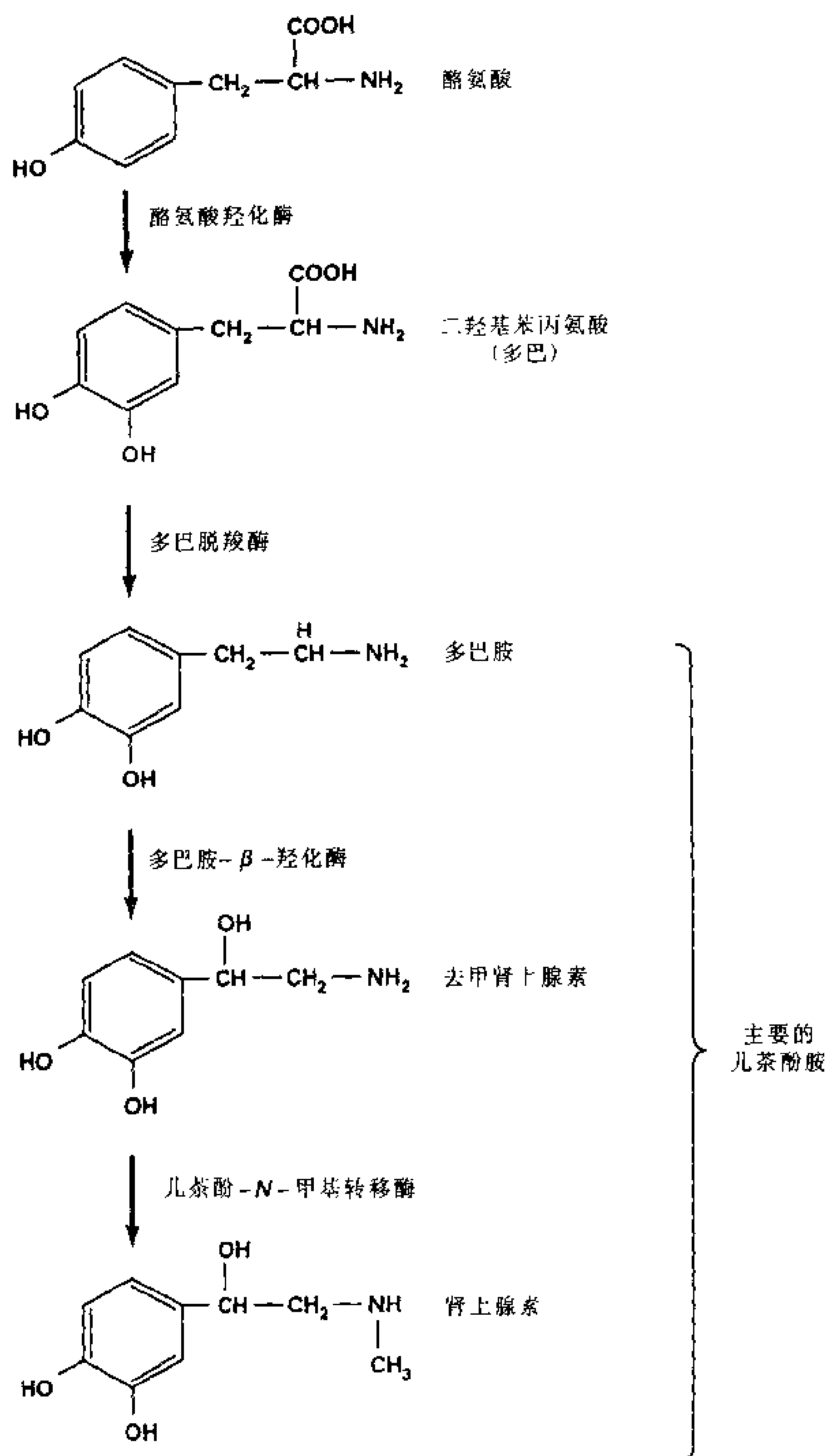


图 9-4　儿茶酚胺的生物合成。儿茶酚胺的合成起始于酪氨酸。酪氨酸羟化酶将酪氨酸羟化为二羟基苯丙氨酸，是生物合成途径中的限速步骤。

素作用于许多受交感神经支配的靶器官。在胚胎发育期，肾上腺髓质与交感神经元起源于

同一前体细胞。它们与交感神经元有许多相同的特性，因而作为易于处理的模型系统广泛应用于研究肾上腺素能神经传递（见第 14 章）。

多巴胺　去甲肾上腺素和肾上腺素均属于被称为**儿茶酚胺**（catecholamine）的一般化合物家族，儿茶酚胺是包含一个氨基以及一个儿茶酚核（带有两个邻位羟基的苯环，见图 9-4）的有机分子。此家族的另一重要成员是多巴胺，**多巴胺**（dopamine）是去甲肾上腺素和肾上腺素生物合成过程中的中间产物，它本身也是一种主要的中枢神经系统递质。与哺乳动物脑内肾上腺素能神经元相对较少正好相反，有好几个不同的核团——即大的神经元集合——含有多巴胺，而且多巴胺能神经轴突在脑的许多区域内呈复杂的分布。多巴胺系统在控制动物的运动、行为、情绪及感知方面是必需的。我们在后面将要简要地讨论到，许多神经衰退性疾病，包括帕金森氏病、精神分裂症及双重抑郁症等，至少一定程度上与多巴胺能神经通路障碍有关。

儿茶酚胺的合成、贮存和释放　儿茶酚胺的生物合成途径如图 9-4 所示。第一步，普通氨基酸酪氨酸在**酪氨酸羟化酶**（tyrosine hydroxylase）催化下生成多巴（DOPA），酪氨酸羟化酶仅分布在肾上腺髓质的嗜铬细胞和交感神经元内，因而它的存在可以断定一种细胞为肾上腺素能细胞（类似由胆碱乙酰转移酶推知胆碱能细胞）。它是儿茶酚胺生物合成的限速酶，由复杂的调节机制所调节。例如，该酶的活性可被生物合成途径的产物所调制，其合成受影响交感神经元生长和分化的因子（如神经生长因子，见第 14 章）所控制。

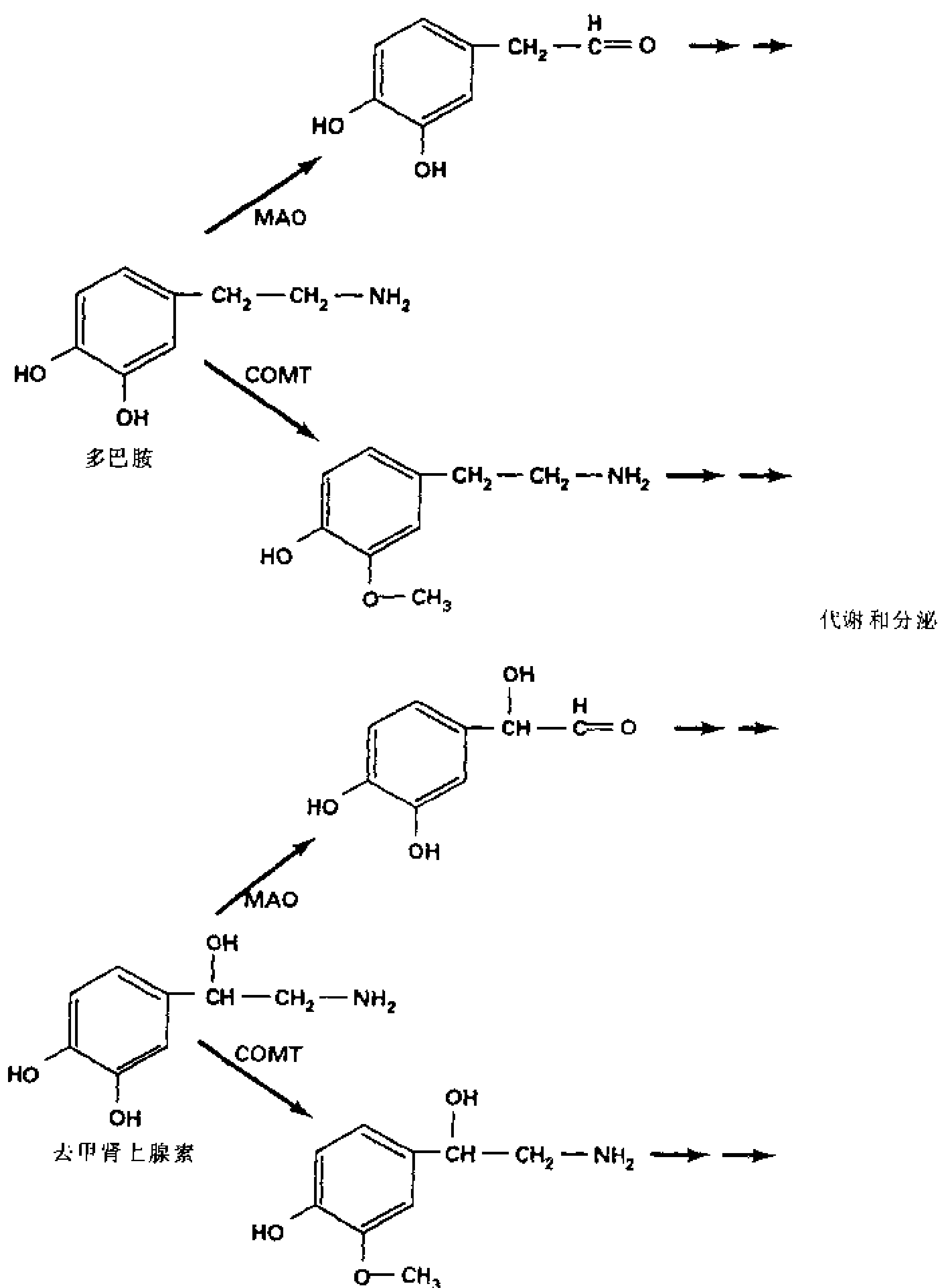
后面的步骤包括，通过多巴脱羧酶的作用除去多巴的羧基，生成多巴胺。多巴胺是主要的儿茶酚胺类神经递质的第一个。然后多巴胺上的 β-碳原子处被**多巴胺-β-羟化酶**（dopamine β-hydroxylase）羟化生成去甲肾上腺素，再在苯乙醇酸-N-甲基转移酶作用下将去甲肾上腺素甲基化生成肾上腺素（图 9-4）。

儿茶酚胺像乙酰胆碱一样贮存于囊泡内。对肾上腺髓质的嗜铬细胞内的儿茶酚胺囊泡（被称为**嗜铬颗粒**，chromaffin granule）及交感神经细胞内的儿茶酚胺囊泡的特性已进行了很深入的研究，并认为中枢儿茶酚胺能神经元的储存囊泡的特性与嗜铬细胞及交感神经细胞内的相似。除含有儿茶酚胺递质外，这类囊泡还含有高浓度的 ATP（浓度达 100 mM，大约为神经递质在囊泡内浓度的 1/4）和被称为**嗜铬颗粒蛋白**（chromogranin）的蛋白质，其作用了解得很少，可能参与囊泡的包被和贮存。颗粒中还含有多巴胺-β-羟化酶，提示去甲肾上腺素的生物合成过程至少有一步发生在囊泡内。

紧随钙内流到细胞内之后，儿茶酚胺通过胞吐作用从嗜铬细胞释放，据推测这种钙内流是通过电压依赖性钙通道，就像胆碱能神经元的情况一样。因为嗜铬颗粒很大（0.1 μm），在显微镜下就可直接观察到胞吐过程，并可用第 7 章描述过的电容测量技术来研究。但是对其他释放儿茶酚胺的神经元来说，细胞胞吐作用还未被证实。事实上似乎有点令人费解的是，神经元会将肾上腺素能颗粒内那些耗能的内容物泵到细胞外。虽然有证据表明，ATP 在邻近细胞间的信息传递中起一定作用，但是在嗜铬颗粒蛋白和多巴胺-β-羟化酶的情况可能并非如此，因它们需经新蛋白质的合成和轴突运输才能得到补充，这些过程缓慢，并且看起来似乎不需要细胞供给能量。很可能这些蛋白质在递质释放后仍以某种方式与囊泡膜相连，使它们能被重新摄取，也许通过主动运输或胞吞。另一方面，有迹象

提示，这类递质像乙酰胆碱一样，可发生非胞吐方式释放。

儿茶酚胺的摄取和代谢　　儿茶酚胺作用于靶细胞的效应较乙酰胆碱持久，这是因为细胞外无乙酰胆碱酯酶那样快速起作用的酶存在。相反，突触间隙的儿茶酚胺是通过被重新摄取进入突触前细胞而被清除。摄取是一个 Na^+ 依赖性的运输过程，此过程我们在有关



代谢和分泌

图 9.5　儿茶酚胺的代谢。单胺氧化酶（MAO）和儿茶酚-O-甲基转移酶（COMT）这两种酶催化儿茶酚胺降解的第一步反应。

胆碱的摄取的讨论中已提到过，而且在本章内还将反复遇到。这种高亲和活性的摄入机制可逆儿茶酚胺浓度梯度将其聚集在突触前细胞内，使其浓度远远高于细胞间隙的浓度。

与酶解儿茶酚胺有关的两种主要的酶是**单胺氧化酶**（monoamine oxydase，MAO）和**儿茶酚-O-甲基转移酶**（catechol O-methyltransferase，COMT）。儿茶酚胺在 MAO 作用下转变成相应的醛（图 9-5），并进一步被降解成别的产物离开脑并被清除掉。MAO 位于儿茶酚能神经末梢的线粒体膜上，帮助调节神经末梢内儿茶酚胺的水平。MAO 也存在于其他类型的细胞内，其功能尚不清楚。COMT 使儿茶酚核上的一个羟基甲基化，产生的产物进一步被代谢并被清除掉。虽然 COMT 的功能是代谢全身的儿茶酚胺，但它在儿茶酚胺能神经传递中的精确定位与功能尚待确定。MAO 和 COMT 的抑制剂是重要的精神病药物。

儿茶酚胺的药理学与神经系统功能障碍 有证据显示，脑内儿茶酚胺通路的障碍可导致**双极障碍**（bipolar disorder）和**精神分裂症**（schizophrenia）。但是证据是间接的，并主要依据于可改善这类疾病的症状的药物与儿茶酚胺系统交互作用的事实。经典的发现（迄今已 35 年）是，许多 MAO 抑制剂如帕吉林（pargyline）可提高脑内儿茶酚胺的浓度，是临床有效的抗抑郁药。另一类临床有效的化合物，即所谓的**三环抗抑郁药**（tricyclic antidepressant），如丙咪嗪（imipramine），似乎通过抑制高亲和性摄取系统而延长儿茶酚胺的作用（主要在去甲肾上腺素能突触）。这些发现导致**情感性障碍儿茶酚胺学说**（catecholamine theory of affective disorder）的提出，该学说的基本表述为：某些中枢去甲肾上腺素能突触活性降低导致行为压抑。此外，基于这一学说，躁狂则是由于这类突触的活性过高所致。支持后一学说的事实有，兴奋性药物**苯丙胺**（amphetamine）可增加去甲肾上腺素能通路的活动，这很可能是因其抑制了神经递质的再摄取。所有这些发现均说明，Na^+ 依赖性高亲和神经递质摄取系统对维持中枢神经系统突触正常功能是必需的（见后面）。最近，五羟色胺也被认为与双极障碍有关。氟西汀（prozac）是一种高效和应用广泛的抗抑郁剂，是五羟色胺再摄取的特异阻断剂。

精神病的儿茶酚胺学说（catecholamine theory of psychotic illness）主要强调多巴胺能突触的功能障碍。多种抗精神病药如经典的**氯丙嗪**（chlopromazine），均是突触后多巴胺受体的有效阻断剂。应强调的是，许多化学上不同种类的化合物，如**丁酰苯**（butyrophenones）、**噻吨**（thioxanthenes）和**酚噻嗪**（phenothiazene）都可阻断多巴胺受体，从而改善精神分裂症的症状，这引出了多巴胺能通路过度的活动可导致精神分裂症的假设。证据也是间接的，但这一点并不妨碍许多公司投入大量资源找寻可能成为治疗神经分裂症药物的多巴胺受体阻断剂。

由于解剖学与药理学上的发现相一致，多巴胺能通路在某些运动机能方面的作用已被很肯定地证实。**基底神经节**（basal ganglia）——脑深部的几个神经细胞**核团**或集团——对于控制躯体运动是必要的。基底神经节本身接受从**黑质**（substantia nigra）来的传入，黑质在脑内是一个含多巴胺的主要中枢，并通过丘脑影响运动皮层的活动（图 9-6a）。

黑质基底神经节通路释放的多巴胺对维持正常躯体运动是必需的。从黑质投射到**尾状核**（caudate nucleus，基底神经节的组成部分之一）的多巴胺神经元可发生不明原因的病理性变性。结果使黑质的影响消失（图 9-6b），将导致特征性运动功能障碍，包括静息时肢端低频震颤和姿势反射受损。这一变性疾病称为**帕金森氏病**（Parkinson's disease），此病以

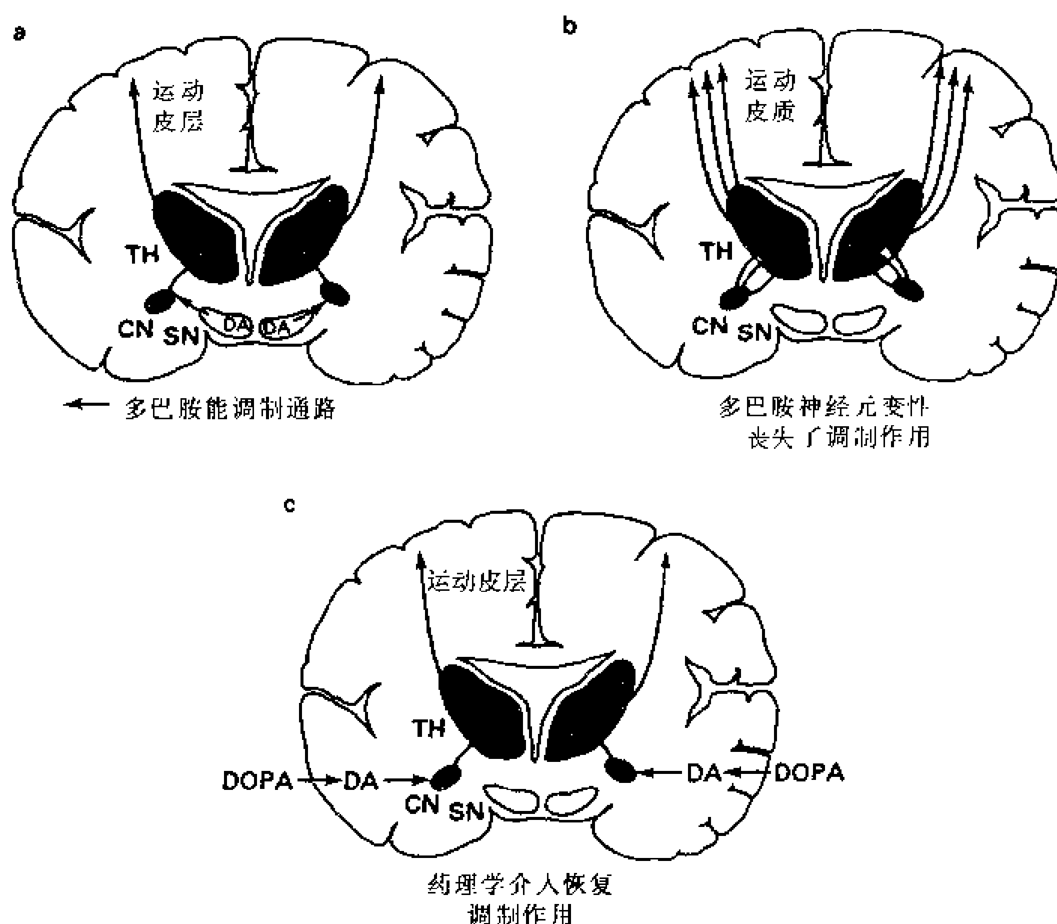


图 9-6 多巴胺通路与运动功能（a~c）。黑质（SN）中的多巴胺（DA）神经元对运动功能有重要影响。多巴胺神经元投射到尾状核（CN），尾状核再与丘脑（TH）的神经元发生联系，影响运动皮层的传出。

一个多世纪以前首先描述该病症状的英国内科医生 James Parkinson 的名字命名。由于认识到帕金森氏病涉及多巴胺能神经元的变性，因此推测若把多巴胺应用于脑内，可能会减轻症状。因为多巴胺不易从血液进入脑内，所以选用多巴代替，多巴确实能进入脑内，并被多巴脱羧酶催化生成多巴胺（图 9-4）。当帕金森氏病患者同时服用多巴和 MAO 抑制剂（图 9-6c）时，可戏剧性地暂时减轻症状。这种疾病是一种典型的由于某种特定递质缺失而诱发，并依据理论推理治疗有效的神经系统疾病。不幸的是，多巴疗法并不能逆转此病的进程，而只能将症状缓解一段短时间，在数年内该病呈渐进的变性而恶化。

5-羟色胺　5-羟色胺（5-HT）是另一种神经活性化合物，既非严格意义上的激素，又非严格意义上的经典神经递质。在循环系统如血小板中，以及在脊椎和无脊椎动物的中枢神经系统内发现有大量 5-HT。像儿茶酚胺一样，它是由普通的氨基酸转变而来，转变成 5-HT 的是色氨酸。色氨酸通过一种特异的 Na^+ 依赖性摄入系统被摄入神经元内，然后通过**色氨酸羟化酶**（tryptophan hydroxylase）催化的反应被羟基化（图 9-7）。像儿茶酚胺生物合成的例子一样，这一初始反应是 5-HT 形成的限速步骤。生成的 5-羟色氨酸立即经脱羧形成 5-HT。5-HT 被包被入分泌颗粒内，据推测通过 Ca^{2+} 依赖性胞吐机制释放到

突触间隙，随后被摄回到突触前终末并被 MAO 降解（图 9-7）。

5-HT 分布在分散的神经元核团内，大部分位于脑干，这些核团发出纤维投射到整个脑内。然而，5-HT 能通路的确切作用尚不清楚。有证据暗示 5-HT 与睡眠的调节及“失眠症”有关。普遍认为致幻觉药物如**麦角酸二乙胺**（LSD）可能是通过与 5-HT 通路的交互作用产生效应。虽然其实验证据很复杂，因而解释起来很困难，但是似乎可能与 LSD 拮抗 5-HT 的一些作用并模拟 5-HT 的另一些作用有关。在一些无脊椎动物如龙虾和海兔身上，对 5-HT 作为神经递质/神经激素影响一定行为的机制，已在细胞甚至分子水平了

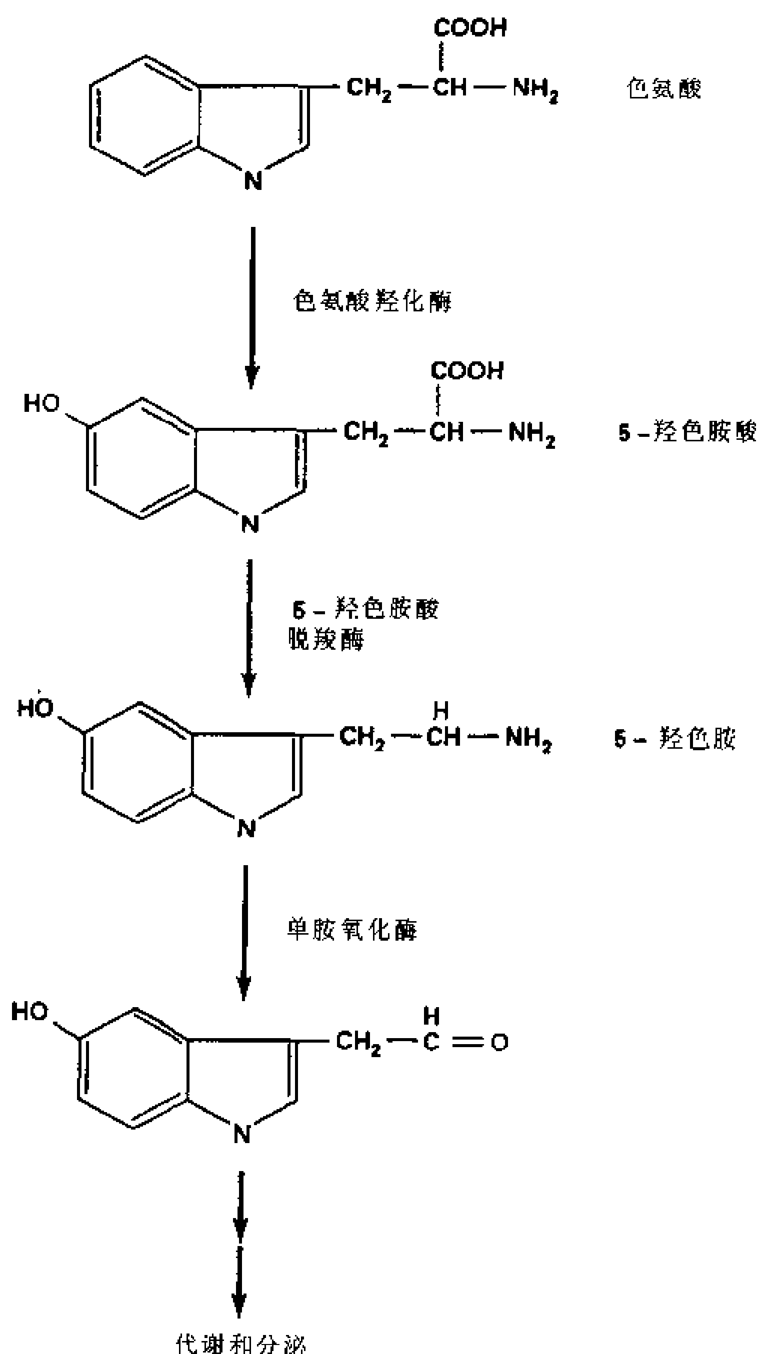


图 9-7　五-羟色胺（5-HT）的合成和代谢。

解得相当清楚（见第 17 章和第 18 章）。

其他胺类　　我们未给出所有的胺类神经递质。例如，人们正迅速地获得组胺可影响哺乳动物（及无脊椎动物）中枢神经系统神经元活动的证据。在许多物种身上，另一个重要的化合物是**去甲对羟福林**（octopamine），它与多巴胺和去甲肾上腺素密切相关。在某些突触，ATP 可能与儿茶酚胺一同被释放，并影响神经元的特性，腺嘌呤核苷酸也能调节神经元的活动。虽然我们将不会对其他胺类做进一步的讨论，但是要提醒读者，将来几乎肯定会有更多的胺类神经递质被发现。

氨基酸类神经递质

毫不奇怪，要证明氨基酸的神经递质作用非常困难。尽管多年前就认为氨基酸有神经递质作用，但人们怎样检验相关的判断标准？例如，对**存在**于突触末梢的氨基酸如何判断，因为这些化合物不仅高浓度地出现于神经元，也存在于所有类型的细胞中。在哺乳动物神经系统的三种主要的氨基酸神经递质：**γ-氨基丁酸**（γ-GABA）、甘氨酸和谷氨酸中（图 9-8），后两种是无处不在的蛋白质组分，因而此问题特别突出。相反，GABA 几乎只存在于脑内，并很早被确定为可能的神经递质（图 9-8）。随着证据的增多，疑问已被平息，现已普遍认为中枢神经系统的绝大多数突触将氨基酸作为神经递质。

谷氨酸及其他兴奋性氨基酸递质　　谷氨酸、天门冬氨酸及其合成类似物几乎可使哺乳动物脑内任何部位的神经元产生兴奋性（去极化）反应。虽然谷氨酸早被证实是昆虫及甲壳纲生物神经肌肉接头处的兴奋性神经递质，但直到最近才认识到，它对哺乳动物脑的药理作用表明，它是脑内主要的兴奋性神经递质。多数证据是基于脑内几种不同类型的谷氨酸受体的证明（见第 10 章），以及有关当前热点的大量工作，即其中一类受体可能在发育期和成年动物的突触的长时程可塑性中扮演了必不可少的角色（见第 16 章和第 18 章）。目前仍不清楚天门冬氨酸是否本身被归类为生理性神经递质，或它仅仅是与一种或多种谷

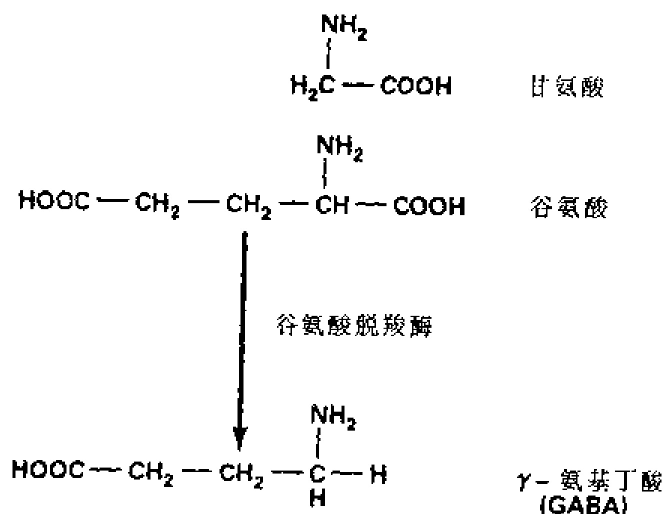


图 9-8　主要的氨基酸类神经递质。

氨酸受体发生交互作用。

谷氨酸的合成和分解代谢的详情可在任何标准生化教科书上找到，恕不赘述。谷氨酸对突触作用的终止方式并不完全清楚，但如同前面我们讨论过的所有神经递质的情况一样，很可能与神经元内存在的 Na^+ 依赖性高亲和性的谷氨酸摄入系统（可能也存在于胶质细胞）有关（见后面）。

GABA 和甘氨酸：抑制性氨基酸神经递质　GABA 更易于研究。它也是在无脊椎动物突触——甲壳纲生物的肌肉突触首先被证实为抑制性神经递质。当发现 GABA 在哺乳动物脑内的浓度远高于其他组织时，其作用便被高度重视。GABA 通过**谷氨酸脱羧酶**（glutamic acid decarboxylase，GAD）催化的反应由谷氨酸脱羧而成（图 9-8），含有该酶的神经元就可以认定是 GABA 能神经元。

脑（或其他组织）内蛋白质的分布情况可应用**免疫组织化学**（immunohistochemistry）技术确定，后面我们还将提到这一重要技术，特别是有关神经元发育及可塑性的章节。将脑组织的固定或冰冻切片与一种可与特异性蛋白质结合的抗体一起孵育，再与和抗体结合并显示抗体的定位的荧光或呈色试剂孵育，则可在显微镜下观察脑切片上与抗体结合的蛋白质的分布情况。应用一种特异抗-GAD 的抗体的这种免疫组织化学研究，揭示了 GABA 能终末遍布于整个大脑。由此看来，GABA 似乎是哺乳动物中枢神经系统的主要的抑制性神经递质。

突触终末含有 Na^+ 依赖性高亲和性 GABA 摄入系统，而分解代谢的主要途径是通过线粒体的 GABA-α-谷氨酸转移酶，使之再生成谷氨酸。GABA 是一种十分令人感兴趣的神经递质，因为许多对脑功能有明显作用的药剂可调制它的作用；在下一章我们将讨论这些药理试剂中的某些试剂与 GABA 受体发生交互作用，从而调制 GABA 能传递的方式。

甘氨酸也不易研究，因为它像谷氨酸一样，含量很高。然而它在脊髓及低位脑干中（可能还有视网膜）似乎是最重要的抑制性神经递质。如同谷氨酸的情况一样，对甘氨酸研究的最新进展的大部分成果，来自对介导甘氨酸的突触后作用的特异性受体的鉴定和分离。甘氨酸在脑内至少可与一类谷氨酸受体交互作用，从而调制谷氨酸能神经的信息传递。在脊髓，甘氨酸的作用由突触前终末的 Na^+ 依赖性摄入系统终止（见下文）。

神经递质转运体

在本章我们一直强调，所有小分子神经递质的共同特点，是在神经细胞及神经胶质细胞的浆膜上存在着递质摄入系统，此系统负责防止神经递质的过度作用，以及在突触前终末循环利用递质。以神经-肌肉接头处的乙酰胆碱为例，就像我们在本章较前部分看到的一样，它的作用由水解酶对它的水解而终止，但是水解的产物胆碱也被特异的转运系统摄取（见图 9-3）。各个摄入系统由不同的转运体蛋白介导，每一种转运体蛋白均具有特异性，只转运特定的神经递质。然而，各种转运体也有共同特征，特别是它们都需要胞外 Na^+ 的存在，并由跨膜的 Na^+ 浓度梯度提供能量，使神经递质聚集于神经末梢内。即神经递质向细胞内的移动必须与 Na^+ 的跨膜运动相偶合。

神经递质转运体家族　分子克隆技术已揭示，像离子通道一样，神经递质转运体至少可分成三个家族，分别具有不同的结构和机能特征。其中一个家族是突触囊泡膜上的转运体，在突触传递过程中，它负责于囊泡胞吐前将神经递质从胞浆集中到囊泡内，在此不对此做深入的讨论。第二个家族是含有转运 GABA、甘氨酸和一系列胺类（包括去甲肾上腺素、多巴胺和 5-HT 等）的胞浆膜转运体。这一家族的成员之间有明显的同源性序列，从其疏水结构推测有十二个跨膜片段（图 9-9a），此家族所有成员无一例外的共同底物是 Cl^-。对转运体作**化学计量**（stoichiometry）分析，被转运的三种成分的比例为：$2Na^+:1Cl^-:1X$，X 代表神经递质（图 9-9b）。因此，转运是**生电性的**（electrogenic），即趋向于改变膜电位。Na^+ 与 Cl^- 梯度的综合作用使神经递质能聚集到神经末梢内，其浓度高达细胞外间隙递质浓度的 10000 倍。

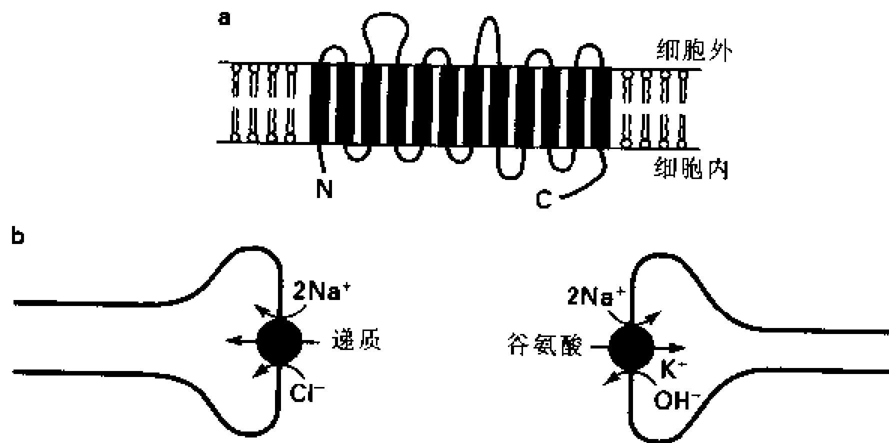


图 9-9　神经递质的再摄取。a：钠/氯依赖性神经递质转运体的结构假想图。b：钠/氯依赖性转运体（左）和谷氨酸（右）转运体的化学计量分析。

有趣的是，谷氨酸的转运体自成一家族，它们与 Na^+、Cl^- 依赖性转运体几乎无同源性，据推测它们的跨膜片段较少。此外，它们的化学计量也不同，谷氨酸转运仍然与 Na^+ 的共同转运相耦连，但并不需要 Cl^- 的参与。而是伴随有 K^+ 及可能还有 OH^- 的逆向转运（图 9-9b），用化学计量学表示为：$2Na^+:1K^+:1OH^-:1$ 谷氨酸。因此谷氨酸的转运除影响膜电位外，细胞内的 pH 值也可能降低。

神经递质转运体的多样性　尽管神经递质转运体的多样性不能与 Ca^{2+} 或 K^+ 通道的多样性相比，但大多数小分子神经递质看来确实存在数种不同的转运体。例如，至少有四种不同的 GABA 转运体、三种甘氨酸转运体和三种谷氨酸转运体被克隆出来。就像离子通道的情况一样，多种编码基因及单一基因 mRNA 的交替剪接都是其种类多样性的原因。这种分子的异源性并非预料之外，因为早已知道在脑的不同部位，不同的转运体与神经递质具不同的亲和性及不同的药理学特性。此外，对某一特定的神经递质来说，它的不同转运体在细胞内的分布也不同。应用前面所述的免疫组织化学技术，以及能定位特定 mRNA 的**原位杂交**（*in situ* hybridization）技术的实验已经证实，某些转运体在神经元内表达，而其他的一些转运体仅存在于神经胶质细胞内。在第 2 章中我们已知，神经胶质细胞的一项重要功能，可能是通过对神经元的神经递质的摄取和代谢来调节突触传递。

神经递质转运体的结构和功能　像离子通道的情况一样，分子生物学技术的应用，使神经递质的结构与功能的关系得到了进一步的认识。因为胺类转运体是一系列重要药物的生理靶目标，这些药物包括临床上使用的抗抑郁药和一些如苯丙胺、可卡因等中枢兴奋药，所以用基因突变方法鉴定药物作用的分子决定簇非常有效。这一方法的例子如图 9-10 所示。因为多巴胺和去甲肾上腺素转运体的氨基酸序列具有高度一致性，但它们与三环类抗抑郁药的亲和性则明显不同，所以通过两种转运体的某一片段的结合而形成的嵌合性转运体，可用于鉴定蛋白质的特定的功能结构域（图 9-10）。例如，已发现转运体的中心部分——包括第 6、第 7 和第 8 跨膜片段——是这些临床上重要的药物的结合区域。

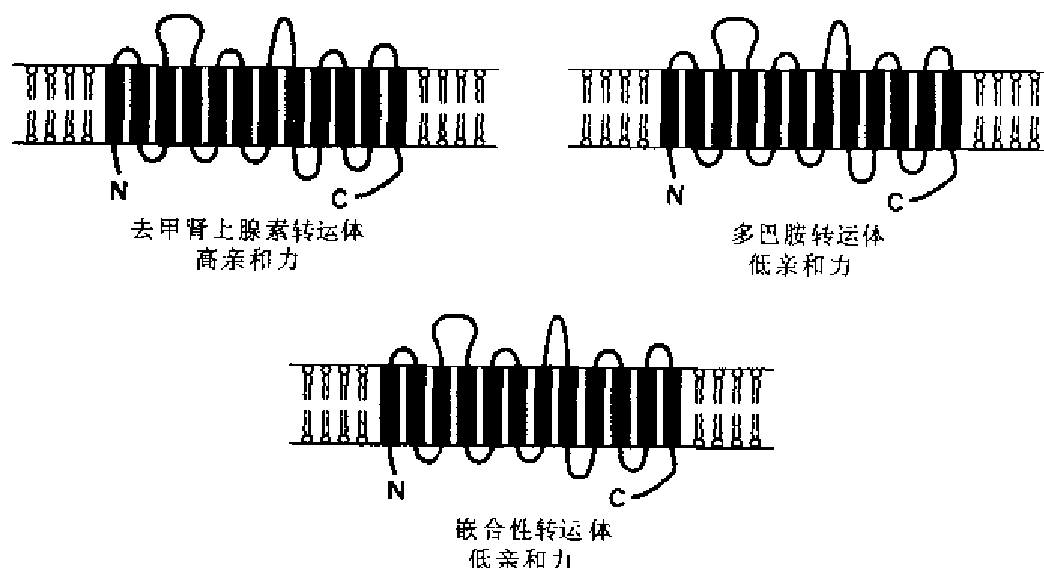


图 9-10　钠/氯依赖性神经递质转运体的结构和功能。多巴胺和去甲肾上腺素转运体的假想结构非常相似，但他们对三环抗抑郁药的亲和力不同。一种嵌合性的转运体揭示，转运体的中间结构域在决定亲和力方面起重要作用。

在 20 世纪 70 年代早期，形成了中枢神经系统的神经递质候选者的通用模式。乙酰胆碱、5-TH 和儿茶酚胺已被充分证明为脑内的主要神经递质，虽然中枢的许多突触所释放的递质仍未确定，但是氨基酸可能弥补这一空缺的猜想开始出现。对**神经活性肽**（neuroactive peptide）不仅仅在脑外靶组织起到像激素一样的作用，而且在中枢神经系统内也起着关键作用的认识，很明显使得这种简单的构想变得多么幼稚。

神经肽与小分子神经递质有一些共同的特点。例如，像许多经典的神经递质一样，一些神经肽被释放入血发挥远距离作用，而其他的则局限在突触间隙内。如本章开头部分所述，主要在字义上区分**神经递质**与**神经激素**并无多大意义。尽管如此，神经肽与小分子神经递质在许多方面确实有所不同。表 9-1 列举了肽类神经递质区别于经典神经递质的一些特性。因为并不是所有部位的神经肽能传递都具备这些特性，所以，把它们说成是倾向性较特性更恰当。

表 9-1　肽类神经递质的特性

在细胞体内以大分子前体蛋白质的形式合成并被运送到释放位点；必须在细胞体内合成来补充
缓慢的突触后效应
由细胞外的蛋白酶或扩散来终止效应
与经典的神经递质一同释放
能触发复杂的协调行为
作用不需要点对点的突触联系

被推定为肽类神经递质的名单以高速度持续增长（表 9-2），本文无法尽述。在此仅描述一些神经活性肽，重点强调该领域的发展历史和表 9-1 所列举的倾向性的一些例子。

表 9-2　一些经彻底研究的神经活性肽的例子

肽	氨基酸序列[a]
P 物质（substance P）	RPKPQQFFGLM-NH_2
神经紧张素（neurotensin）	pELYENKPRRPYIL
血管活性肠肽（vasoactive intestinal peptide）	HSDAVFTDNYTRLRKQMAVKKYLNSILN
促甲状腺激素释放激素（TRH）	pEHB-NH_2
黄体激素释放激素（LHRH）	pEHWSYGLRPG-NH_2
催产素（oxytocin）	CYIQNCPLG-NH_2
加压素（vasopressin）	CYFQNCP$^{R}_{K}$G-NH_2
α-内啡呔（α-endorphin）	YGGFM TSEKSQTPLVT
甲硫氨酸－脑啡肽（met-enkephalin）	YGGFM
FMRF 酰胺（FMRFamide）	FMRF-NH_2
直肠素（proctolin）	RYLPT
产卵激素（egg-laying hormone）	ISINQDLKAITDMLLTEQIRERQRYLADLRQRLLEKG-NH_2

[a] 氨基酸的单个字母符号：A，丙氨酸；R，精氨酸；N，天冬酰胺；D，天冬氨酸；C，半胱氨酸；Q，谷氨酰胺；E，谷氨酸；G，甘氨酸；H，组氨酸；I，异亮氨酸；L，亮氨酸；K，赖氨酸；M，蛋氨酸；F，苯丙氨酸；P，脯氨酸；S，丝氨酸；T，苏氨酸；W，色氨酸；Y，酪氨酸；V，缬氨酸。氨末端的小写字母 p 表示一个焦性谷胺酰胺；一些碳末端酰胺化（NH_2）。

P 物质　对肽类的研究历史实际上开始于 60 多年前，那时意外地发现了 **P 物质**（substance P）。Ulf von Euler 和 John Gaddum 在寻找各种组织内的乙酰胆碱时，发现脑及胃肠组织内有一种降血压和使胃肠血管收缩的化合物。因为它不被胆碱能拮抗剂阿托品阻断，因此认为它不是乙酰胆碱，而将之命名为 P 物质（意思是粉末，powder）。尽管 von Euler 早在 1936 年就提出 P 物质可能是一种蛋白质，但在 30 多年后它的结构才被确定。P 物质是由 11 个氨基酸组成的肽，通过直接生物测定和免疫组织化学的研究发现，它在哺乳动物脑内普遍存在。它被认为是感觉通路上与痛觉或触觉有关的突触递质。事实上，支配牙髓的神经元中也含有 P 物质，该处的惟一感觉形式是疼痛。P 物质

是第一个，也是目前了解得最清楚的一种所谓**脑肠肽**（brain-gut peptide），即在中枢神经系统和胃肠管腔中均有发现的神经活性物质。现有许多这样的定位模式的例子，反映出胃肠受大量的神经支配的事实。

下丘脑肽　如前文所述，下丘脑是两种经典神经激素——催产素和加压素的合成部位。这两种激素除可影响外周组织的活动外，还可改变中枢神经元的放电方式，特别是有研究报告提出，加压素可影响大鼠和人类的行为方式。合成这些肽的神经巨细胞的纤维不仅投射到垂体循环，而且也投射到脑内的许多部位，用免疫组化技术对这两种激素的定位与它们参与突触传递的结论一致（图 9-11）。

下丘脑也合成其他生物活性肽，即所谓的**释放因子**（releasing factor）或**释放激素**（releasing hormone）。释放激素进入门脉循环，被送到垂体前叶调节另一组垂体肽类激素的释放。这些垂体肽类激素随后作用于外周组织。例如，**促甲状腺激素**（thyroid-stimulating hormone，TSH 或 thyrotropin）在下丘脑分泌的**促甲状腺激素释放激素**（thyrotropin-releasing hormone，TRH）的促进作用下释放，再进入血液循环作用于甲状腺

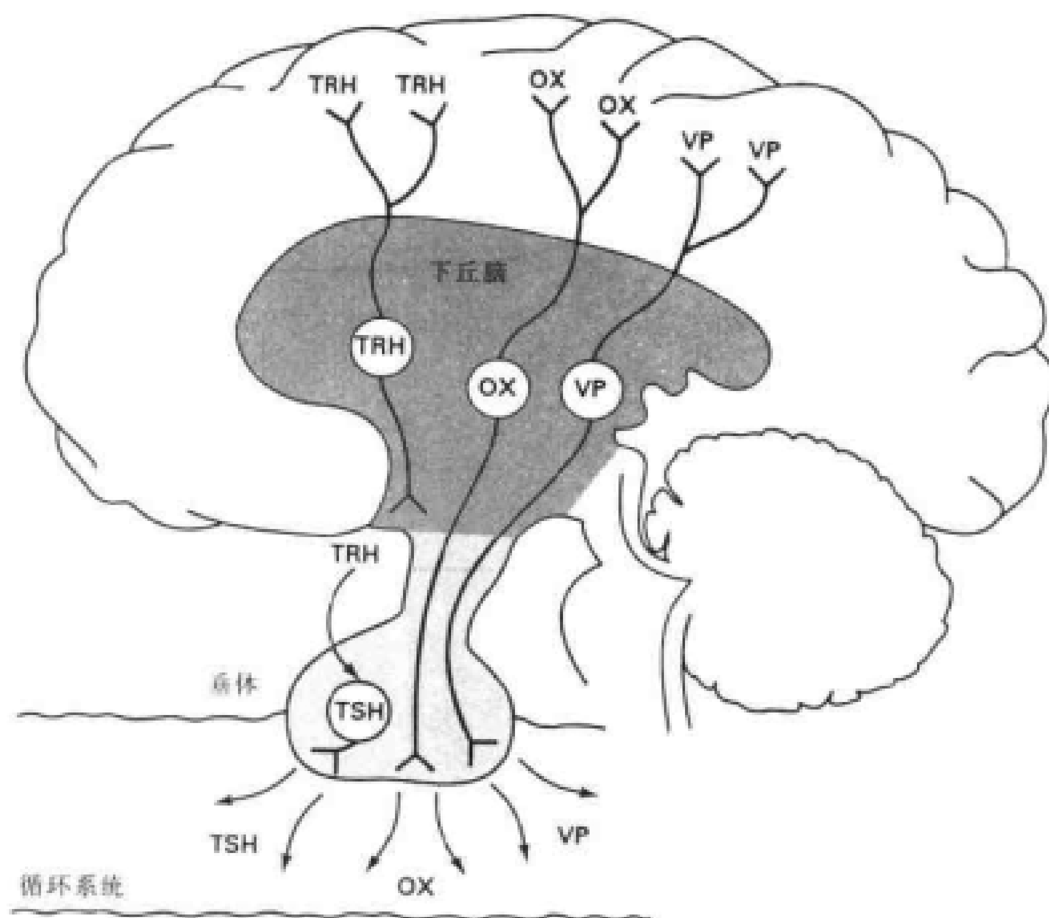


图 9-11　下丘脑是神经活性肽的一个重要来源。催产素（OX）和加压素（VP）神经元投射到垂体后叶（也叫神经垂体），在该处肽类被释放进入体循环。释放激素例如促甲状腺激素释放激素（TRH），通过门脉循环到达垂体前叶（腺垂体），并刺激激素例如促甲状腺激素（TSH）的释放。下丘脑的肽类也可以作为脑内的神经递质起作用（见 Silverman and Zimmerman，1983）。

(图 9-11)。在脑内其他一些区域也发现大量 TRH，可能作为一种局部激素或神经递质起作用。其他的释放因子也是如此。

黄体生成素释放激素（luteinizing hormone-releasing hormone，LHRH）是另一种释放因子。实际上，它是被令人信服地证实为神经递质的第一个肽，它被证实为蛙交感神经兴奋突触的递质。这一突触表现出表 9-1 所列的倾向性的许多方面。刺激突触前神经纤维在突触后神经节细胞上产生一系列复杂的反应。刺激除了诱发缓慢的突触抑制（在此不予讨论）以外，还引起三种完全不同时相的突触兴奋，称为**快兴奋性突触后电位**（excitatory postsynaptic potential，EPSP）、**慢 EPSP** 及**慢晚 EPSP**。快 EPSP 和慢 EPSP 均由于乙酰胆碱作用于两种特异的受体所致（见后面两章），而慢晚 EPSP（可持续 5 分钟或更长时间）是由于一个 LHRH 样肽的作用所致，此效应可通过应用 LHRH 模拟（图 9-12），且已知阻断 LHRH 的其他（非神经元的）作用的药物可阻断这一效应。在两类交感神经元（较大的 B 细胞和较小的 C 细胞）可观察到 LHRH 介导的突触后电位。有趣的是，含有 LHRH 的突触前纤维并不与 B 细胞发生直接的突触联系。B 细胞的突触后反应是由于 LHRH 能从其释放位点**弥散**几微米远作用于 B 细胞。这表明这种突触反应无需点对点的突触联系。

突触后反应的慢时程可归因于 LHRH 在突触后细胞上的**迁延逗留**（lingering pres-

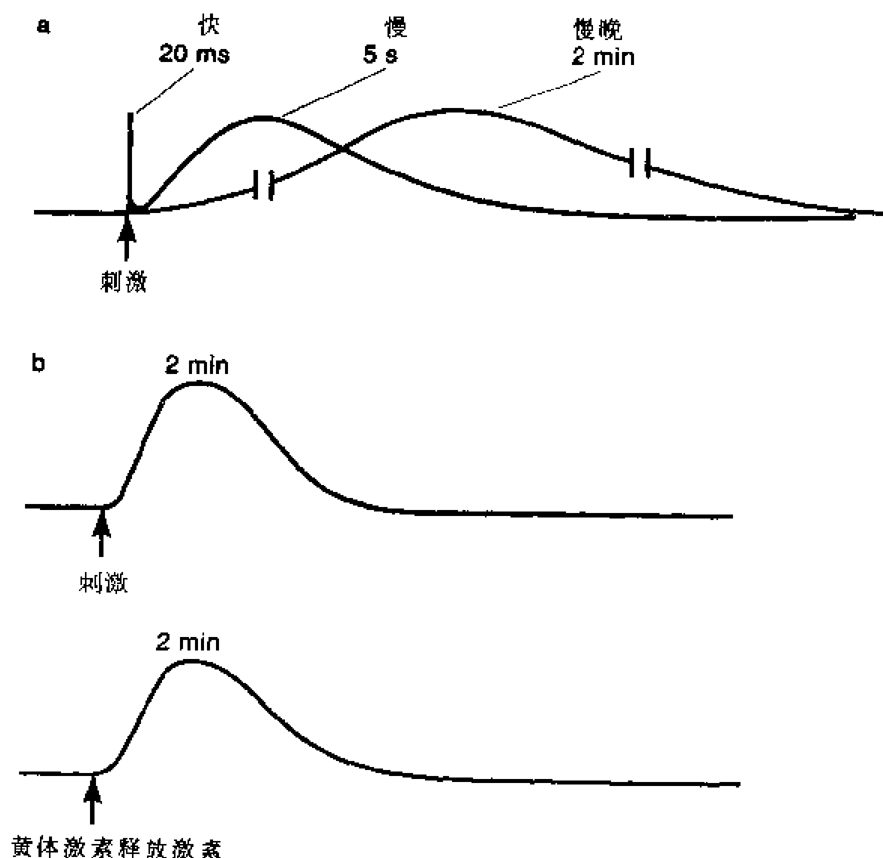


图 9-12 蛙交感神经节的长时程突触反应。a：神经节前刺激在节神经元产生三种兴奋性（和一种抑制性）突触效应。他们的时程有 4 个量级的不同。b：给予黄体激素释放激素（LHRH）模拟了慢晚兴奋性突触后电位。

ence)。若在突触后电位期间用药物阻断 LHRH 的作用，反应也立即被终止，这表明 LHRH 的持续作用对于维持反应是必需的。最后，LHRH 是一种能在动物身上产生长期和复杂的行为的肽。因此虽然没有"乙酰胆碱行为"或"GABA 行为"，却有"LHRH 行为"。如果在雌性大鼠脑内注入 LHRH，则可唤起它复杂而又刻板的性行为。

阿片肽 在 20 世纪 70 年代中期，随着**脑啡肽**（enkephalin）和其他阿片肽的发现，多肽的时代来临了。阿片肽的故事特别令人感兴趣，因为它们的发现不是偶然的，而是在理论指导下从可模拟吗啡和其他鸦片作用的内源性化合物中发现的。

回顾历史文献可知，罂粟的汁可使人产生欣快感，而且是高效的镇痛剂。其中的有效成分吗啡（以希腊的梦神 Morpheus 命名）在几乎 200 年前就已被分离出来。20 世纪 70 年代早期认为吗啡或其他鸦片很可能与脑内特异性受体位点结合而发挥作用，将具放射性活性的鸦片结合于脑细胞膜上的实验可以证明这一点。那么，下一步的推测是，如果脑内含有特异性的受体位点，则一定有内源性配体与其结合并激活这些受体。

事实上的确发现了两种具有此性质的化合物。在生物测定中，因为它们的**止痛**（analgesia）作用而首先被分离出作为镇痛剂。这些化合物是结构相似的戊多肽，仅仅羧基末端的氨基酸不同，故命名为**甲硫氨酸脑啡肽**（Met-enkephalin）和**亮氨酸脑啡肽**（Leu-enkephalin）：

酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-甲硫氨酸　　甲硫氨酸脑啡肽

酪氨酸-甘氨酸-甘氨酸-苯丙氨酸-亮氨酸　　亮氨酸脑啡肽

用生物测定的方法证实合成的脑啡肽也是有效地起止痛作用的鸦片制剂。

研究人员注意到亮氨酸脑啡肽的完整结构，包含在有 91 个氨基酸的大得多的垂体激素——β-**促脂素**（lipotropin）的第 61～65 个氨基酸残基，β-促脂素在几年前就已被分离并测序，但其功能当时仍不清楚。发现脑啡肽后不到一年，有证据显示至少还存在三种具有阿片样活性的较长的肽，即所谓的**内啡肽**（endorphin），包含在 β-促脂素的氨基酸序列之内。免疫组化实验证明，脑啡肽和内啡肽在脑内分布广泛，但似乎不共存于同一神经元内。

脑啡肽/内啡肽的故事指出了肽类与更加经典的神经递质的另一重要区别（见表 9-1）。经典神经递质多是小分子，可由神经末梢内的酶催化合成和代谢；而肽类必须通过蛋白质的生物合成机制，据推测是在细胞体内，经复杂的处理和包装（见第 7 章），才能显示出其生物活性。但这些多肽的储存是如何及时补充以维持持续的释放等疑问仍未解决，而这对于经典神经递质来说看来已不是问题。

脑啡肽和内啡肽包含于一个较大分子的前体的发现并不完全出人意料，因为已知许多肽类激素，例如胰岛素以及最早发现的神经激素——催产素和加压素——也是先合成为较大分子的**激素原**（prohormone），然后经蛋白酶处理产生具有活性的激素（见第 7 章）。事实上，β-促脂素本身也包含于一个大得多和更复杂的前体。分子克隆技术表明，真正的前体是一种多肽，在其序列中含有垂体激素**促肾上腺皮质激素**（corticotropin，ACTH）以及阿片肽和几种功能不清楚的天然肽。这一令人惊奇的发现有许多分支。例如，在第 17 章中我们将讨论使用几种肽类神经递质的神经元的生理学。这些肽类神经递质的每一种均是从其单一前体蛋白的不同部位剪切而形成的（见图7-6b）。

一些无脊椎动物肽　无脊椎动物体内含丰富的神经活性肽，其中一些也存在于脊椎动物神经系统内（表 9-2）。目前研究得最透彻的无脊椎动物神经肽是戊肽**直肠素**（proctolin）（它被首先从蟑螂后肠中分离出来）、蜗牛四肽 FMRF 酰胺和含 36 个氨基酸的海兔产卵激素。编码这些肽的某些多肽的前体的基因与编码哺乳动物的特定神经肽的基因具有明显的同源性。而且，许多大体积和易于识别的无脊椎动物神经元，提供了实验上的便利，使得对某些这些肽类的生理作用研究得相当详尽。例如，在海兔的神经分泌细胞——**袋细胞神经元**（lag cell neuron）上，产卵激素的合成、加工和释放及其对靶组织的作用机制已经研究得很清楚。类似地，直肠素对龙虾的行为方式的调制作用已在细胞水平上进行了彻底的分析。以后章节将对这些系统的某些部分进行更详尽的讨论。

肽类和经典神经递质的共存　药理学家 Henry Dale 很多年前就提出：一个特定的神经元只合成一种神经递质，且它的所有末梢只释放这种递质。然而目前令人信服的组织化学证据表明，一些神经元含有一种或多种神经肽和一种经典的神经递质，它们贮存在不同的囊泡，但常存在于同一突触末梢内。

目前仍不清楚这种递质共存赋予神经元怎样的可变性。然而已经明确，不同的神经递质不必同时释放。在几个事例中发现，低频刺激只引起“经典”神经递质的释放，而短暂的高频刺激爆发是肽类和“经典”神经递质同时释放所必需的。仍不清楚是什么机制选择性地释放一种递质，而不释放另一种递质，但是可能与高频或低频刺激的动作电位侵入神经末梢时，预期的钙离子分布方式的显著差异有关。在低放电频率下，钙离子在电压依赖性钙通道附近紧靠膜下产生一短暂和非常局部的变化，而其他部位，如远离膜的钙水平所受的影响很小。然而在高频刺激时，膜内钙离子水平随着爆发过程中的每一个动作电位而进行性增加，而且在远离钙通道的区域，钙离子浓度也有了很大的提高。因此，如果含肽类物质的囊泡仅仅在高钙时胞吐，或者它们主要分布在远离细胞膜的位置，那么肽类的释放只有在突触前的高频刺激时才会出现（图 9-13）。因此我们能够理解，在一个神经元内的不同神经递质的共存，使它可以对突触后的同一个靶组织产生不同的效应，而产生何种效应则依赖于突触前的刺激模式。

有关神经递质共存的功能意义的疑问，可以扩展到：为什么要有递质共存？因为事实上，存在这么多种神经活性物质。原则上，神经系统仅有两种神经递质就足以正常工作，即一种介导兴奋效应，而另一种则介导抑制效应。实际上在后面两章中我们将看到，既然大多数（如果不是全部的话）神经递质都存在多种受体，那么甚至一种神经递质就已足够，反应的兴奋或抑制性质可由靶细胞上的受体类型决定。虽然对这一难题仍没有肯定的答案，但是也有一个合乎情理的解释：即多种神经活性物质使反应既具有持续宽广的**时间**（time）域，又具有**特征**（character）的多样性。因此将神经元活动想象为简单地开或关、激活或失活是错误的。相反，在第 4 到第 6 章我们已知神经元含有许多不同的离子通道，这些通道使神经元的活动可被微量调制，也许神经递质（和受体）的多样性参与了神经元功能的这种微调。

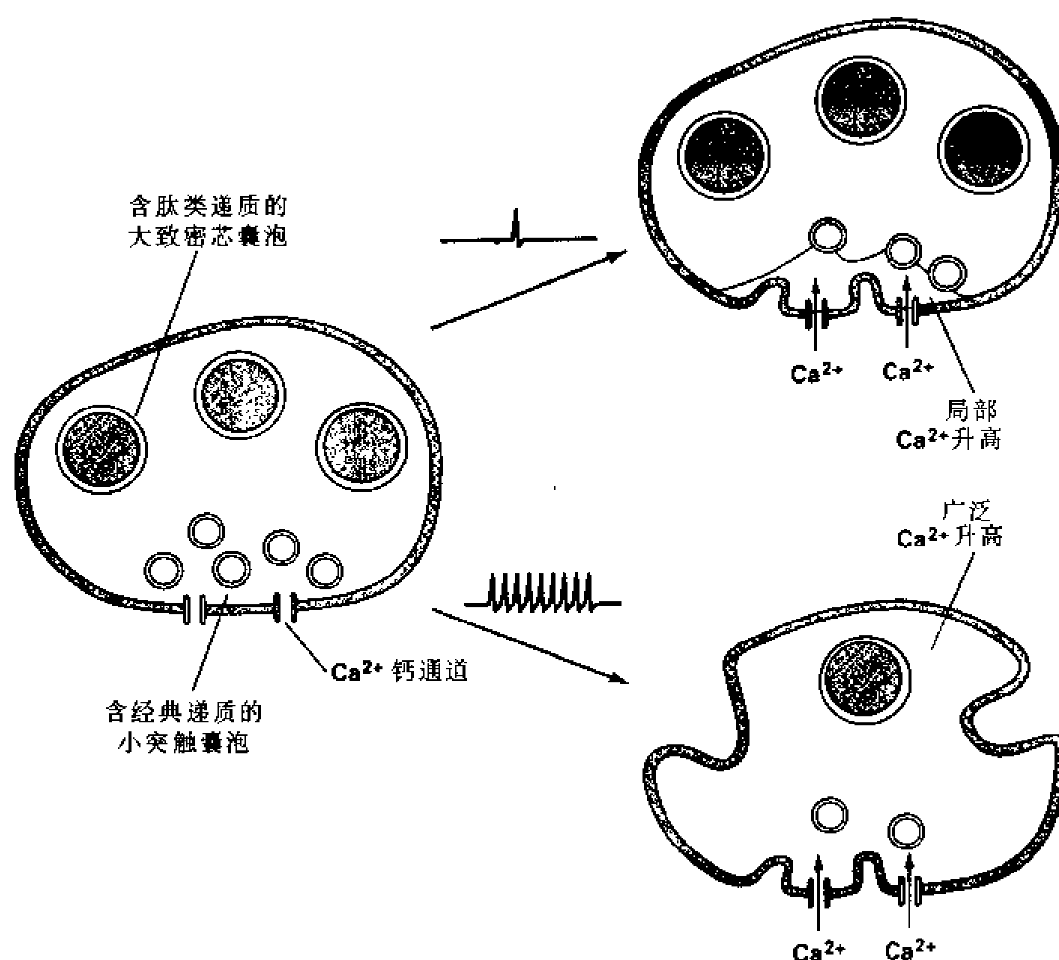


图 9-13 经典神经递质和肽类神经递质在突触终末的释放。选择性释放假说：经典神经递质在低频刺激时释放，在动作电位的快速爆发时两种类型的递质一同释放。

小结

被称为神经递质的大量化学物质在神经系统内介导细胞间的通讯。其中一些在半世纪前就已研究清楚，然而新的递质仍不断地出现。虽然它们的性质多种多样，但均贮存于神经末梢的囊泡内，通过钙离子依赖性过程，被释放到细胞间隙。它们的作用因其被特异的转运体蛋白摄入突触前终末或附近的神经胶质细胞而终止。神经递质的作用是改变某些靶细胞的电和/或化学特性。通过最近 20 年对肽的探索，证实了神经系统内的信号传导是通过丰富多样的化学传播的形式发生的，一些神经元可同时使用多种化学传播。

10

受体和转导机制 I：与离子通道直接偶联的受体

在前面章节中我们已讨论过，所有的神经活性物质均可改变靶神经元的某些特性。但对于特定的神经递质或激素来说，这种效应具有高度的特异性。在众多可能的化学信号中，神经元是如何知道哪种信号影响它，并如何决定对该信号作出适当的反应呢？显然这些问题的答案对于理解神经系统内细胞间的通讯是至关重要的。在本章及下一章，我们将讨论识别信号传递分子的**神经递质和激素受体**（neurotransmitter and hormone receptors），以及靶神经元内将细胞外信号转变为电效应（通常是，但不总是）的**转导机制**（transduction mechanisms）。本章重点讨论**直接**偶联到离子通道上的神经递质受体，这些受体调节通道的活动（图 10-1）。就像我们前面已经强调过的，在这里我们再次强调，这些机制并不仅仅限于神经细胞。其他细胞上也有细胞间信号传递分子的受体，也

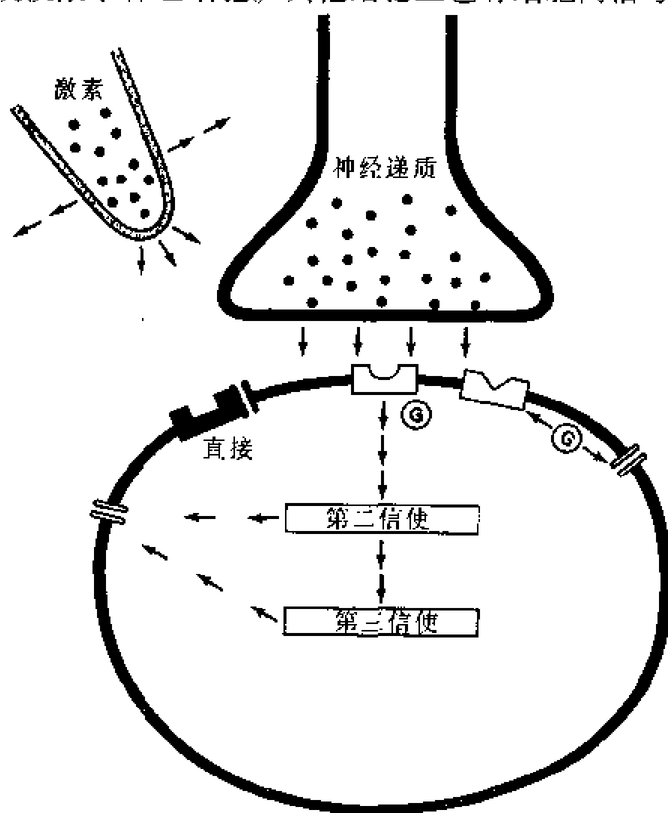


图 10-1　细胞间通讯。本章将讨论受神经递质调节的与离子通道直接偶联的受体（深色）。

能够把这些信号转变成某种生物效应。不同的是，神经元的生物学效应通常表现为电压变化，并最终改变递质的释放，从而使信号能够在多神经元通路中从一个神经元传递到另一个神经元。

效应的特异性

药理学上特异性受体结构的概念已经沿用了几乎一个世纪。许多年前，药理学家们就已经认识到，药物产生特殊效应必须通过与细胞上或细胞内的特异的位点交互作用。通过确定产生一种特定反应的药物（受体**激动剂**，agonist）及抑制激动剂作用的其他药物（受体**拮抗剂**，antagonist），就可能建立受体的药理学模型。而且，可以测量这些多种多样的激动剂和拮抗剂的有效作用浓度，从而形成了定量药理学。从药理学上来区分受体的最早例子，始于对第一个被确定的神经递质——乙酰胆碱的研究。

尽管已发现乙酰胆碱是神经肌肉接头、外周自主神经系统中的交感和副交感神经节以及节后副交感神经元的神经递质，但不同部位对乙酰胆碱的反应的药理学特性是不同的。烟碱及其相关化合物是骨骼肌的神经肌肉接头的激动剂，而不是心肌的激动剂，以及自主神经系统中的仅仅部分胆碱能突触的激动剂（图 10-2）。而且这些所谓的**烟碱能**

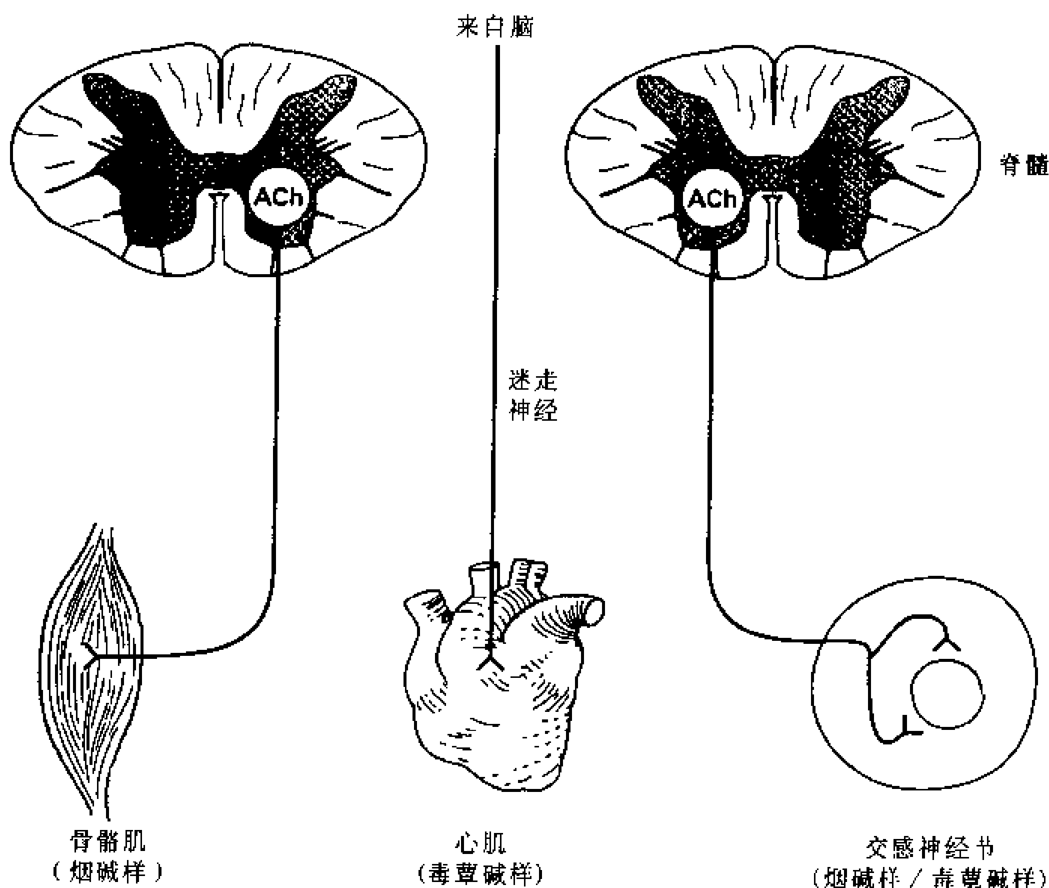


图 10-2 乙酰胆碱激活两种不同类型的受体。从脑或脊髓神经元释放的乙酰胆碱（ACh）的部分作用可被烟碱模拟，而其他作用可被毒蕈碱模拟。介导这两种不同类型效应的受体分别被命名为烟碱型受体和毒蕈碱型受体。

(nicotinic）突触的反应能被**六甲胺**（hexamethonium）和**箭毒**等化合物所阻断（表 10-1)。值得注意的是，南美部落很早就已经知道了这种药理学作用，他们把箭毒涂在箭头上以麻痹猎物。

表 10-1　两种药理学上不同的乙酰胆碱受体

受体类型	一些例子		效应细胞类型
	激动剂	拮抗剂	
烟碱（nicotinic）	乙酰胆碱（acetylcholine）	六甲胺（hexamethonium）	骨骼肌
	烟碱（nicotine）	箭毒（curare）	交感神经元
			副交感神经元
			一些脑神经元
毒蕈碱（muscarinic）	乙酰胆碱（acetylcholine）	阿托品（atropine）	平滑肌
	毒蕈碱（muscarinic）	东莨菪碱（scopolamine）	交感神经元
	氧颤莫林（oxotremorine）	奎纽定二苯羟乙酸盐（quinuclidinylbenzylate）	腺细胞
			心肌细胞
			许多脑神经元

相反，在其他胆碱能突触，乙酰胆碱的作用能被毒蕈碱模拟，而不能被烟碱模拟（图 10-2），而且**阿托品**（atropine）和**奎纽定二苯羟乙酸盐**（quinuclidinylbenzylate）能阻断其作用而箭毒则不能（表 10-1)。现在看来这种毒蕈碱能突触远多于烟碱能突触，哺乳动物中枢神经系统内可能大部分是这种类型的胆碱能突触。我们在上一章中讨论的蛙交感神经节的两种胆碱能突触效应：快 EPSPs 和慢 EPSPs（见图 9-12)，就是乙酰胆碱分别对烟碱型受体和毒蕈碱型受体的不同作用的结果（见图 10-2)。

虽然对致力于神经递质作用的研究的神经科学家而言，乙酰胆碱效应分成两种不同的类型，使得生命更加复杂，但这只不过是冰山一角。事实上，现在已经知道每一种神经递质都与不止一种类型的受体相互作用，如表 10-2 所示，乙酰胆碱不仅有两种主要类型的受体，而其中毒蕈碱型受体还有几种不同的亚型。大约在弄清楚乙酰胆碱的药理学效应的同时，也发现去甲肾上腺素亦能与不止一种类型的受体相互作用，而且随着新的、更加特异性的药物的应用，近些年来肾上腺素能受体亚型的数量也不断增加。与之相类似，胺类、兴奋性和抑制性氨基酸及肽类也都能介导靶细胞的多种反应（表 10-2)。正如我们将在下文了解到的，由于测定受体特性的方法的应用和分子克隆技术引入到受体分子的研究，引起多样性反应的结构基础正逐渐被阐明。

表 10-2　能够与两种或两种以上受体结合的神经递质或神经调质

神经递质/神经调质	受体种类
乙酰胆碱（acetylcholine）	烟碱（nicotinic）
	毒蕈碱（muscarinic）
腺苷（adenosine）	A_1、A_2、A_3
去甲肾上腺素（norepinephrine）	α-肾上腺素能（α-adrenergic）
	β-肾上腺素能（β-adrenergic）
组胺（histamine）	H_1、H_2、H_3
多巴胺（dopamine）	多种受体亚型
5-羟色胺（serotonin）	多种受体亚型
γ-氨基丁酸（GABA）	$GABA_A$
	$GABA_B$
	$GABA_C$
谷氨酸（glutamine）	NMDA
	KA/AMPA
	代谢型谷氨酸受体
阿片肽（opioid peptides）	μ、δ、κ

受体结合分析：从概念到本质

我们已经提到过，提出递质的特异性受体位点的药理学概念已有一段时间了。然而，直接检测膜受体技术的应用只是最近 30 年的事情。为此而发展起来的**配体结合分析法**（ligand-binding assay）已证实从神经递质效应的药理学推断出的受体多样性。进一步的结合分析已极大地拓展了我们对受体结构和功能的认识，因此了解这一技术及由此获得的信息非常重要。

配体结合分析的基本原理如图 10-3 所示。**配体**（ligand，源自拉丁语 ligare，绑紧或结合的意思）是指能与被研究的受体相结合的分子。用某种方法标记配体，通常是放射性同位素，有时是荧光探针，然后被标记的配体与含有受体的细胞膜碎片共同孵育（图 10-3a）。经一段合适的时间使配体与膜碎片中的受体结合，再把结合配体与游离配体分离（因加入的配体过量，故即使所有受体位点均被配体占据，仍会有一些未结合的配体）。我们可测量放射性结合的总量，在适宜的条件下可测量出特异性结合位点的数目。配体结合分析法还可测算**亲和力**（affinity），即配体与受体结合的紧密程度（图 10-3b）。

这种结合分析技术操作简便，通常比受体介导的生物学效应分析法容易得多。而且，通过检测各种化合物能否与放射性配体竞争性结合受体，可迅速检验出可能的受体激动剂和拮抗剂（图 10-4a）。以配体结合量作为不同的竞争性配体的浓度的函数绘图（A1－A4，图 10-4b），可产生一系列曲线。这些放射性配体对特定的受体的半数有效量（$K_{1/2}$）是特征性的。换句话说，不需要检测每种化合物的放射性标记，就可以了解受

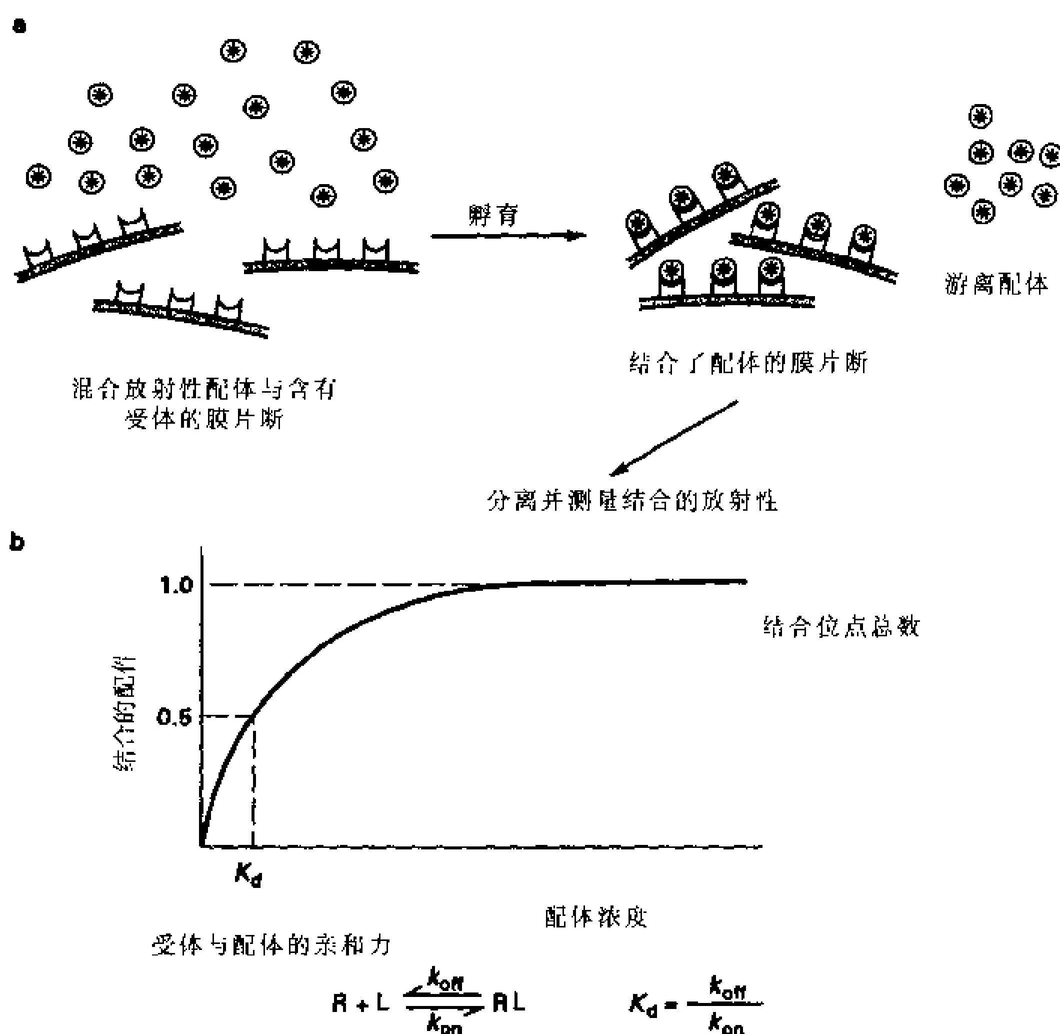


图 10-3 受体的配体结合分析法。a：与要研究的膜受体（R）结合的放射性配体（L）可用于确定受体的某些特性。b：在适宜条件下，用配体结合分析法可测定受体的数量和配体-受体的亲和力。

体结合位点的详细药理学特性。因此这种研究方法可以精确地确定各种受体亚型，其中一部分归纳于表 10-2。很显然，实验中所用的配体必须经过仔细筛选。由于多数神经递质可同时与几种不同类型的位点结合，这将不可避免地妨碍确定药理学作用的努力，因此采用神经递质作为配体进行研究通常是不合适的。然而，常常有可能找到一种仅与特定的神经递质受体亚型结合的选择性配体。

有一个基本前提值得记取，**一个结合位点并不一定是一个生理学上的受体**（a binding site is not necessarily a physiological receptor）。回忆一下，神经递质必须与各种蛋白质包括摄取系统和代谢酶结合（第 9 章）。判断结合位点是不是真正的受体，需要对其药理学特性和受体介导的生物学效应进行比较。只有当二者一致时，才可认为结合位点就是受体。以最早期的一个配体结合实验为例：用〔^{3}H〕纳洛酮来定量阿片受体。众所周知，纳洛酮是阿片受体的一种拮抗剂，在 20 世纪 70 年代早期，几个研究小组证实脑内存在〔^{3}H〕纳洛酮的特异性结合位点。当把阿片受体的各种激动剂和拮抗剂与纳洛酮竞争结合该位点的能力与它们致痛和镇痛作用的能力进行比较时，发现二者的有效

浓度非常相似（图 10-4c）。这些发现有力地证明了脑内〔^{3}H〕纳洛酮结合位点的确是阿片受体。此后，正如第 9 章所描述的那样，与放射性阿片的竞争性结合分析成为识别和纯化内源性阿片，即脑啡肽的方法之一。

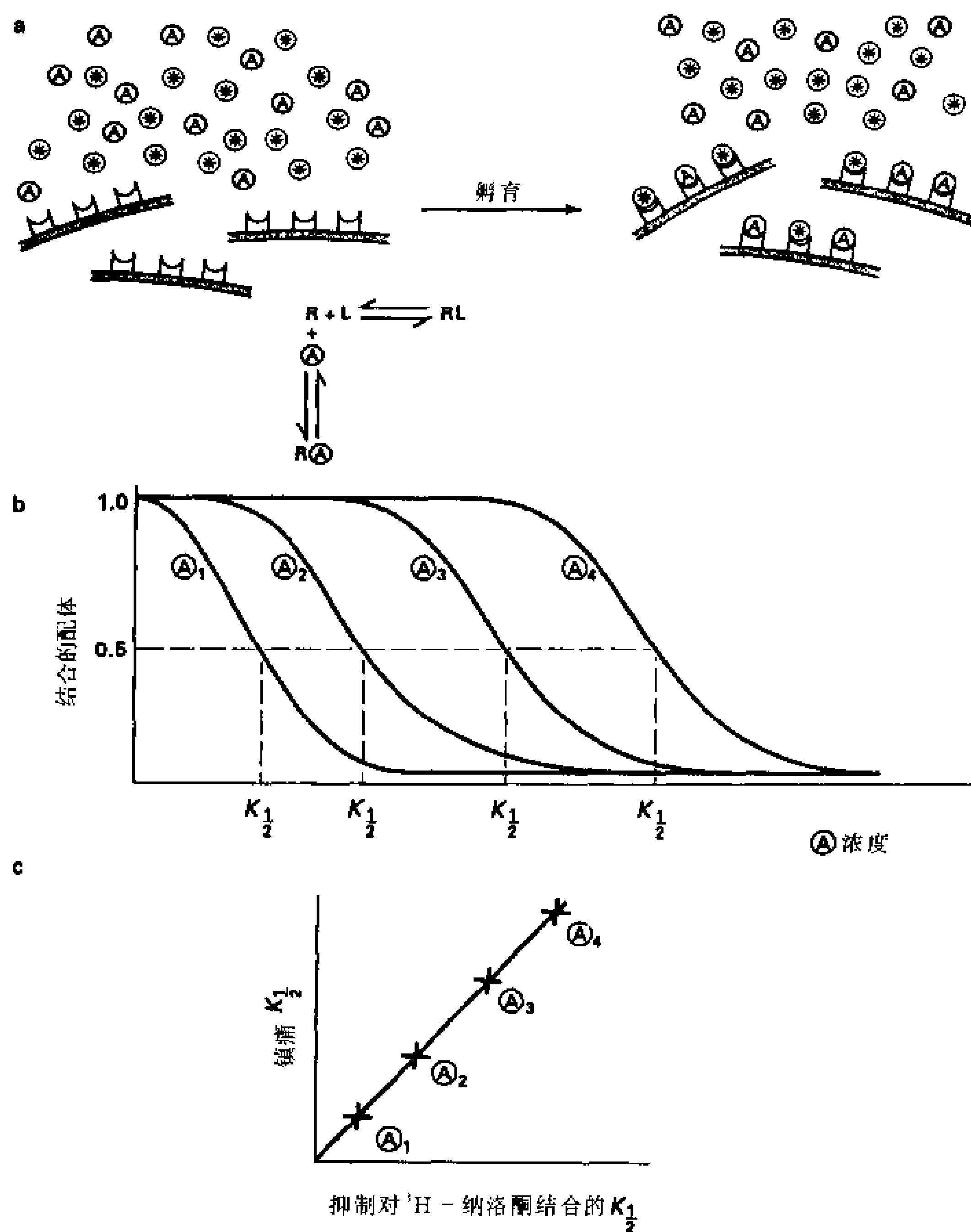
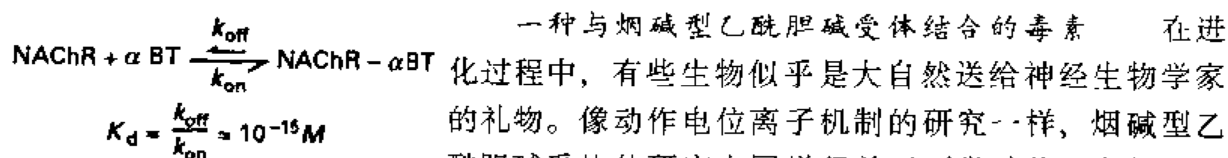


图 10-4 配体结合分析法可用于确定受体的药理学特性。a：实验中受体激动剂和拮抗剂（A）可影响配体（L）和受体（R）之间的平衡。b：在不同浓度的各种激动剂和拮抗剂（$A_1 \sim A_4$）下，放射性配体的结合量图示。c：用同样的激动剂和拮抗剂时，配体结合抑制的药理学特性与通过受体介导的某些生物学效应的药理学特性相比较。

受体的药理学多样性反映结构的多样性

形成单一神经递质的药理学上不同的受体亚型的分子基础是什么呢？是否像我们所了解的离子通道和神经递质转运体那样，存在不同的受体分子？或者是一种受体分子扮演了不同的药理学角色？要确切回答这些问题，只有分离出受体分子。受体学家也注意到，配体结合分析法不仅可用于测定与膜正常结合的受体，也可用来测量纯化后的受体分子的量。而且合适的配体不仅可用于结合分析，也可作为纯化过程中的试剂，即所谓的**亲和试剂**（affinity reagent）。让我们以基于上述概念的方法而纯化出的第一个神经递质受体——烟碱型乙酰胆碱受体及其相关的离子通道为例。它是第一个，因为它是最容易的；人们已获得其高亲和力及高选择性的配体，并且在某些鳗鱼及其他鱼类的电器官中有丰富的受体来源。



$$\mathrm{NAChR} + \alpha\,\mathrm{BT} \underset{k_{on}}{\overset{k_{off}}{\rightleftharpoons}} \mathrm{NAChR}-\alpha\mathrm{BT}$$

$$K_d = \frac{k_{off}}{k_{on}} \approx 10^{-15} M$$

图 10-5　α-银环蛇毒素（α-BT）与烟碱型乙酰胆碱受体（NAChR）非常紧密结合。毒素对受体有极高的亲和力（K_d）。

一种与烟碱型乙酰胆碱受体结合的毒素　在进化过程中，有些生物似乎是大自然送给神经生物学家的礼物。像动作电位离子机制的研究一样，烟碱型乙酰胆碱受体的研究也同样得益于两类动物，它们各有独特的生存特性。第一类动物是蛇，它们的毒液中含有以极高的亲和力和选择性与烟碱型乙酰胆碱受体结合的毒素。这些蛇类就是用毒素来阻断神经肌肉的传递，从而杀死它们的猎物。研究得最清楚的一种毒素是**α-银环蛇毒素**（α-bungarotoxin），来源于台湾**银环蛇属**（bungarus multicinctus）的毒液。它是一种由 74 个氨基酸组成的多肽，与烟碱型受体结合的解离常数为 10^{-15} M（图 10-5）。一旦与受体结合，其解离的半衰期是许多天！这种特性使它成为一种受体分析和亲和纯化中的理想试剂。

烟碱型乙酰胆碱受体的丰富来源　对我们了解烟碱型受体非常有帮助的第二种生物是多个品种的**电鳐**（torpedo）和**电鳗**（electrophorus）。这些动物的电器官由特化的肌细胞组成，这些细胞呈平板状并有组织地平行排列，称为**电板**（electroplaque）。这些细胞失去了收缩功能，并有神经肌肉接头覆盖于细胞扁平面的其中一侧的整个表面，而另一面则无神经支配。正是由于电板的这种结构，使得许多细胞的电压发生叠加，从而产生很大的电压，足以击昏猎物。

测量了电鳐电板细胞膜受体的密度以后，就会发现用这种电器官作为烟碱型受体的来源极具优势。大多数受体和离子通道是含量相对较少的膜蛋白，通常每平方微米膜表面只有一个或数个受体分子。相反，电鳐电板细胞膜上紧密地排列着烟碱型受体，密度达到每平方微米 10000 到 30000 个，而实际上细胞膜上看来没有其他蛋白质的立足空间！因此电鳐已经帮我们做了纯化的关键部分，只要在膜中插入蛋白质和非常少的其他物质，就能比较容易地分离。

烟碱型乙酰胆碱受体的结构　有了如此丰富的受体来源和快速、敏感、特异的α-银环蛇毒素分析法，就可得到大量同源的烟碱型受体。生化分析证实，烟碱型受体是由五个亚单位组成的大分子复合物（图 10-6）。有两个分子量（MW）为 40 000 的α亚单位、一个β亚单位（MW 48 000）、一个γ亚单位（MW 58 000）和一个δ亚单位（MW 64 000）。每个α亚单位含有一个乙酰胆碱（和α-银环蛇毒素）结合位点（图 10-6b）。这与需要结合两个乙酰胆碱分子才能开放烟碱型受体偶联的离子通道的生理学数据一致。

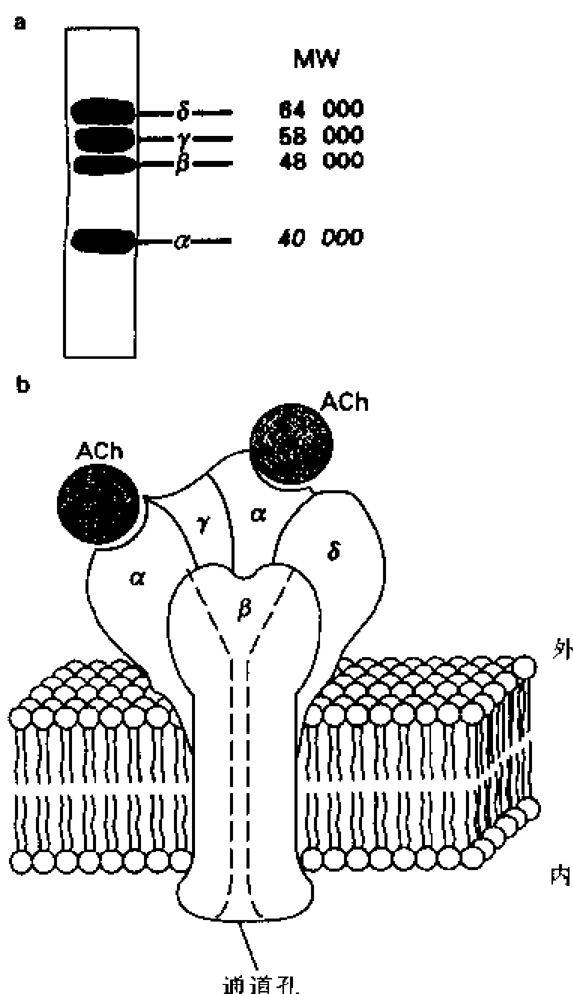


图 10-6　来源于电鳐的烟碱型乙酰胆碱受体。a：聚丙烯酰胺凝胶分离纯化烟碱型受体的单个亚单位。b：交联研究证明，功能性烟碱型受体分子含有两个α亚单位（每个α亚单位含有一个乙酰胆碱结合位点）、一个β亚单位、一个γ亚单位及一个δ亚单位。

像第四章所描述的钠通道一样，通过基因的序列同源性可获得编码烟碱型受体各种亚单位的 cDNA 克隆。突变及异源表达实验已经开始提供该受体的结构和功能相互关系的详细图景。不同亚单位的氨基酸序列彼此间有明显的同源性，这提示它们或许来源于同一前体蛋白。每个亚单位有 4 个疏水的结构域，据推测这是跨膜序列（图 10-7）。如下文将要讨论的，现在已经对参与离子导通的分子区域了解得很多。

在此我们要强调的重点是，当相当长时间后毒蕈碱型乙酰胆碱受体被从各种来源纯化和克隆出来的时候，发现它的结构与烟碱型受体完全不同。毒蕈碱型受体只有一种亚单位，且其功能性膜受体可能是寡聚体。该亚单位分子量为51 000，与烟碱型受体亚单位的分子量相似，但比较二者的氨基酸序列显示无同源性。从疏水性测量推断，毒蕈碱型受体有7个疏水性跨膜结构域，相比较而言，据推断烟碱型受体每个亚单位跨膜4次（图10-7）。

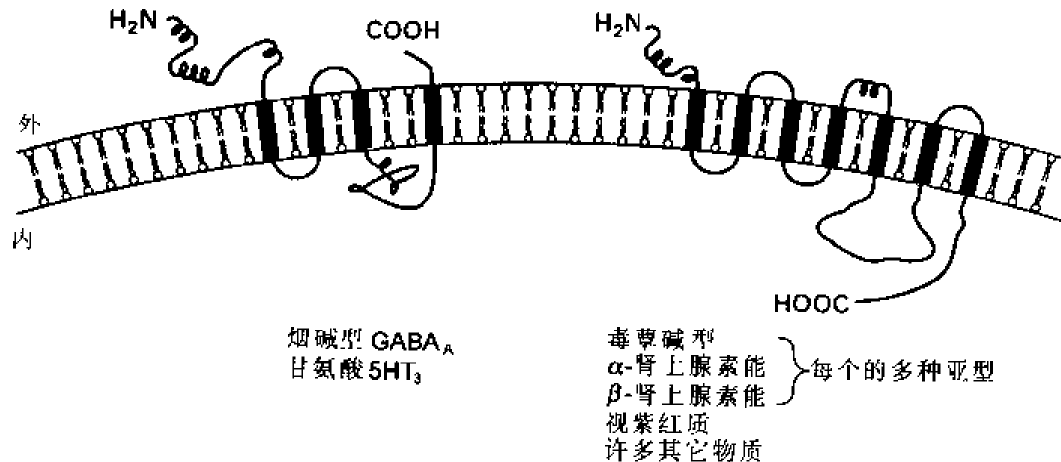


图10-7 乙酰胆碱受体及其他受体的布局。从疏水特性推断，烟碱型乙酰胆碱受体亚单位，以及$GABA_A$受体的亚单位、甘氨酸受体的亚单位和5-羟色胺受体的一个亚型（$5\text{-}HT_3$）的亚单位含有4个跨膜结构域（黑色）。相反，据推测毒蕈碱型受体和相关受体有7个跨膜结构域。

受体的共同结构主题：受体"超家族"

似乎烟碱型和毒蕈碱型乙酰胆碱受体除了都与乙酰胆碱结合并被激活外，事实上没有其他的共同之处。它们存在于不同类型的神经、肌肉和腺体细胞（图10-2），通过不同的动力学特性和机制介导截然不同的生理学反应，而且它们的氨基酸序列和推断的结构亦无相似之处（图10-7）。因为这一点已经使得那些探索自然界统一概念的生物学家感到失望，所以当统一概念确实产生时，它便令人更为满意。正如电压依赖性离子通道存在共同性一样（第6章），事实上受体分子家族也存在共同的结构特征。然而，受体家族的划分并非基于与受体结合的神经递质，而是基于它们所反映的**转导机制**（transduction mechanism），即受体将细胞外信号转换为靶细胞效应的分子机制。现在我们将讨论**配体门控离子通道**（ligand-gated ion channels）家族，烟碱型乙酰胆碱受体即属于该家族。我们将描述这个家族成员所共有的结构特征，及它们兴奋或抑制神经元所用的转导机制。在下一章，我们将描述其他那些转导机制更加复杂的家族。包括毒蕈碱型乙酰胆碱受体在内的**G蛋白偶联受体家族**（G protein-coupled receptor）。

直接偶联的受体/离子通道复合体家族

将细胞外信号转导为靶神经元的兴奋性变化的最简单的方式，就是神经递质受体与

受其调节的离子通道**直接偶联**（direct coupling)。这是各种配体门控离子通道作用的共同机制。配体结合位点和离子通道都是同一分子或大分子复合物的一部分。神经递质与受体结合导致与受体紧密连接的离子通道构象改变，从而改变了通道的特性（图 10-8)。图 10-8 显示一个在静息状态下关闭的通道，在递质作用后**开放**（open)，允许离子（X^+）流过细胞膜。尽管这似乎是大多数已知的配体门控离子通道的作用方式，但原则上递质还有可能**关闭**（close）一些在静息状态下开放的通道。

这种作用机制的一个重要特征是，对离子通道特性的调制依赖于递质和受体的持续结合。受体结合所致的构象改变是轻易可逆的，一旦受体不再与递质结合，通道即恢复其静息状态（图 10-8)。据此可推测，配体门控通道系统可介导突触传递的快速启动和快速恢复，事实正是如此。

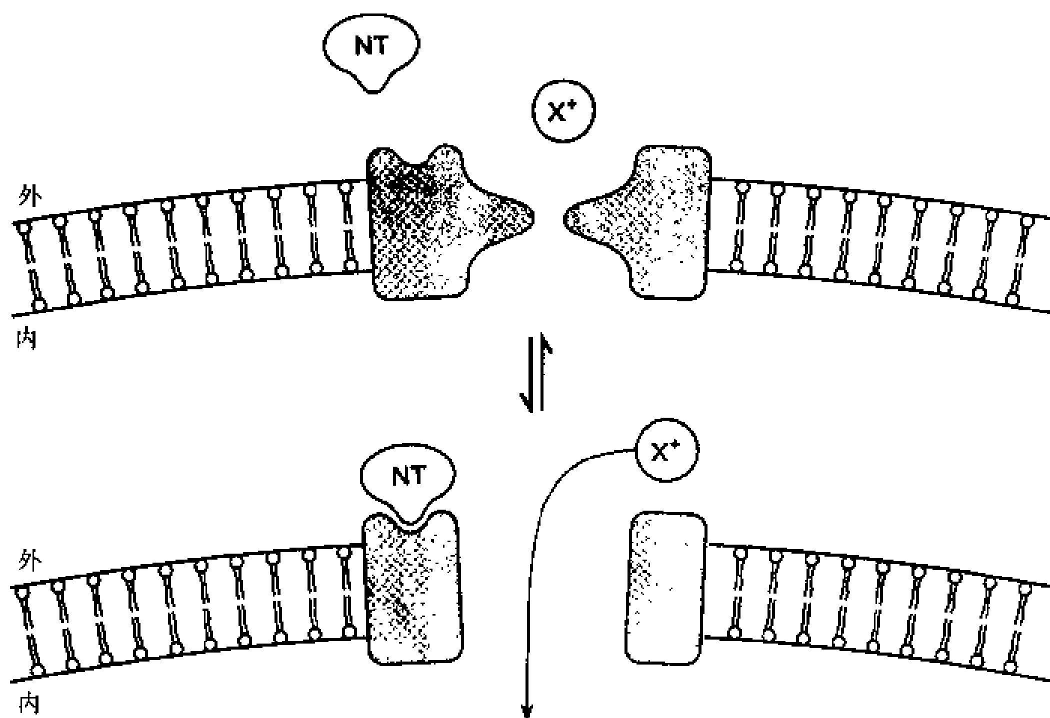


图 10-8 受体-通道直接偶联。在直接偶联的受体通道系统，神经递质（NT）结合位点和离子通道紧密连接在单一大分子复合体中。与图 11-2 和 11-7 对比。

肌肉烟碱型乙酰胆碱受体　　现已知道烟碱型乙酰胆碱受体复合物是一种配体门控离子递道，它不仅含有乙酰胆碱结合位点，还含有乙酰胆碱结合后所激活的离子通道。大多数实验结果，包括据之推断跨膜布局的氨基酸序列信息（来自对电鳐及肌肉烟碱型受体的研究)，都支持这一结论。对神经元烟碱型受体大家族的研究也表明，它们属于同一类配体门控离子通道。

受体/通道直接偶联的生化证据　　我们怎么知道配体门控系统的受体和离子通道确实是同一个大分子复合物的组分呢？让我们首先来看一看烟碱型乙酰胆碱受体的证据。首先，让我们回忆一下前述亲和层析法，这一方法利用与乙酰胆碱结合位点结合的

配体，纯化了由4个多肽亚单位组成的大分子复合体（图10-6）。验证直接偶联假说的早期实验，是将纯化的复合体**重组**（reconstitution）入脂质小体（磷脂小泡），然后测量通过脂质膜转运的放射性阳离子（图10-9）。脂质小体的双层磷脂膜对离子不通透，因此只有在膜上有离子通道开放时才会产生离子流。这类实验证实，包含α-、β-、γ-、δ-蛋白亚单位的复合体足以重建乙酰胆碱依赖性离子流（图10-9a）。换句话说，乙酰胆碱结合位点及其偶联的离子通道在亲和柱上被共同纯化，表明它们必然是紧密结合的。

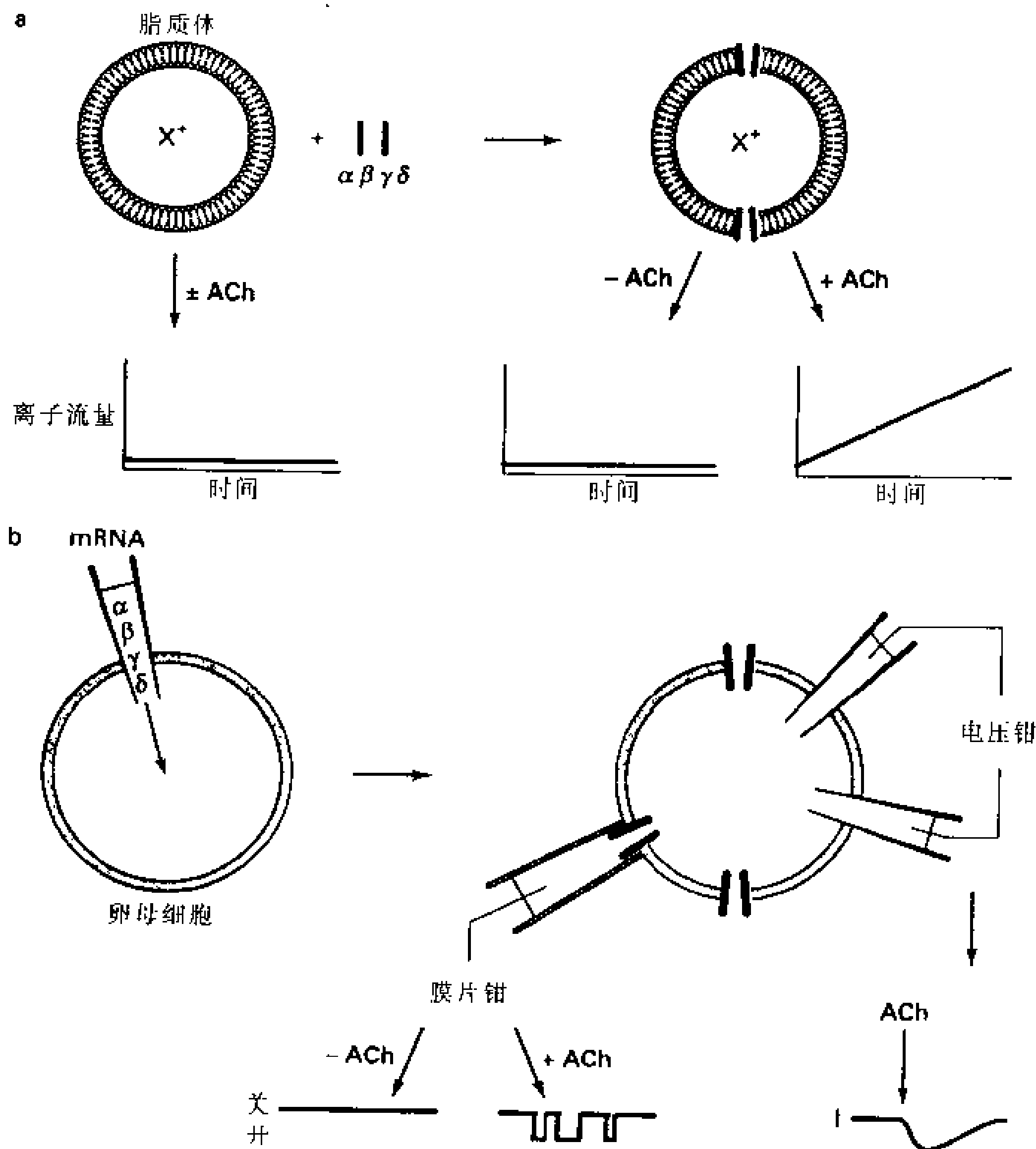


图10-9 受体偶联的离子通道活动的重组。a：用人工合成磷脂制成的球形囊泡（脂质小体），其中装入了离子（X^+）。在各种实验条件下可检测到外向的X^+离子流。b：Eric Barnard和Ricardo Miledi首先证实了烟碱型乙酰胆碱受体亚单位的mRNA在非洲爪蟾卵母细胞的异源表达（见Barnard et al.，1982）。

异源表达和定位突变 一旦得到编码不同亚单位的核苷酸序列，上述结果便被证

实并得以发展。一系列惊人的实验已经开始阐明各个亚单位和特定的氨基酸序列在通道的门控及导电性中的作用。这些实验包括，把α-、β-、γ-和δ-亚单位的mRNA注入非洲爪蟾卵母细胞，这是我们前面提到过的一个异源表达系统。这种卵母细胞中没有内源性烟碱型乙酰胆碱受体，因此通过电压钳或单通道记录技术可以容易地检测出外源性mRNA的功能表达。

把α-、β-、γ-和δ-亚单位的mRNA注入非洲蟾蜍卵母细胞后，确实能成功地表达有活性的乙酰胆碱受体/通道，它们与存在于肌肉中的受体/通道具有相同的性质(图10-9b)。这也证实了生化重组实验所得到的结论，即这些亚单位足以产生一个完整的、有活性的受体/通道复合物。同样地，用识别GABA的受体/通道复合物的α-和β-亚单位的mRNA，亦证明α-和β-亚单位的表达足以产生GABA激活的氯离子电流。这类实验本身提供的新信息较少——事实上卵母细胞表达只不过是一个复杂的重组系统——但是克隆亚单位的异源表达却为我们提供了机会，使我们可以更加详细地探寻受体/通道复合体结构和功能间的关系。

来自哺乳动物肌肉和电鳐电器官的烟碱型受体/通道有相似但不完全相同的门控特性（例如：通道的平均开放时间显著不同），早期实验利用了这一特点。通过注入不同

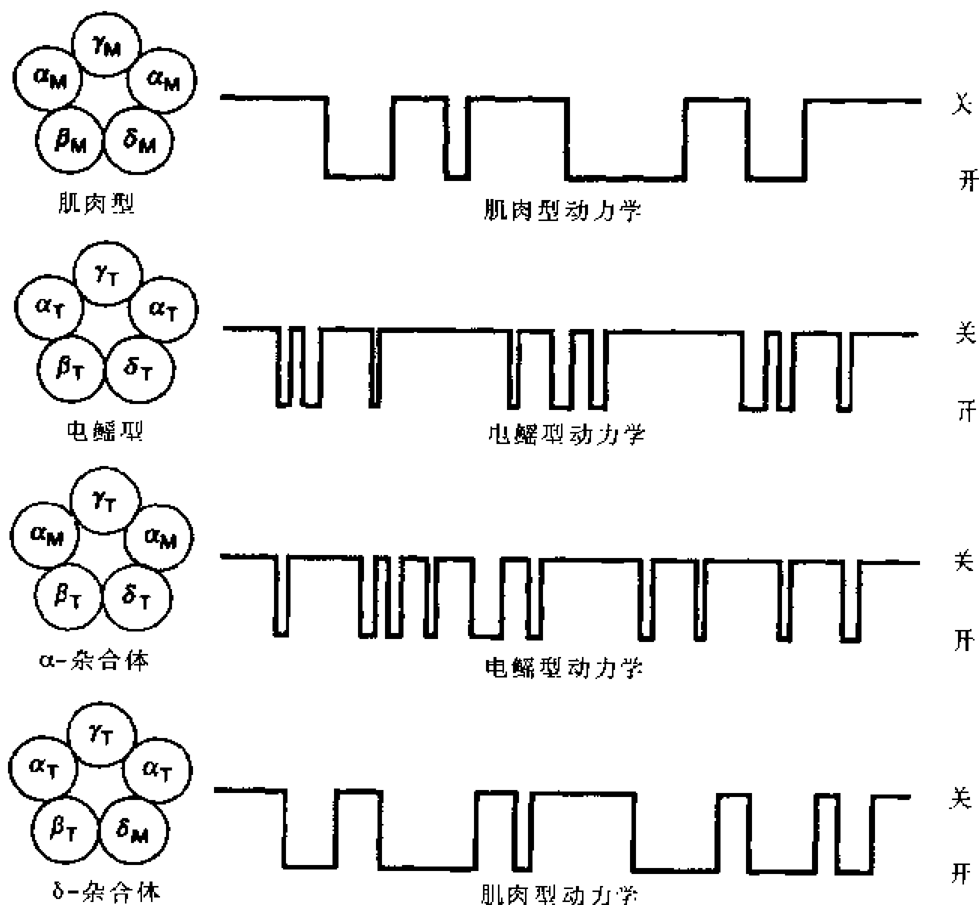


图10-10 卵母细胞中嵌合的烟碱型受体：来源于肌肉的烟碱型受体（M）和来源于电鳐的烟碱型受体（T）表现出不同的开放和关闭的动力学特性。Shosaku Numa和Bert Sakmann通过向非洲爪蟾卵母细胞注射相应的mRNA构建了嵌合的烟碱型受体，这些受体含有一些肌肉的亚单位和一些电鳐的亚单位（见Sakmann et al.，1985）。

组合的哺乳动物和电鳐烟碱型受体亚单位的 mRNA，发现当电鳐的 δ 亚单位被肌肉的 δ 亚单位替换后，电鳐烟碱型受体的门控特性转变为肌肉受体的门控特性（图 10-10）。类似的实验证明，胚胎的和成年的哺乳动物的肌肉上的受体/通道的门控和电导不同，是由于胚胎时表达的 γ 亚单位，由于发育过程的调节，转变为发育后期表达的密切相关的 ε 亚单位。从这些实验中得出的主要结论是，γ/ε 亚基对于决定单个通道的电导很重要，它们和 δ 亚单位均参与了离子通道的门控机制。

其他实验的重点在确定各个亚单位内对通道/受体复合物的各种功能起重要调节作用的氨基酸序列。用电鳐受体中的各种氨基酸序列替代哺乳动物亚单位中的这些序列的嵌合亚单位，以及反过来替代的嵌合亚单位，已经证明了第二个跨膜片段（称为 M2）是形成离子导引通道或孔道的一部分。以下两个精采的实验证实了这一点。其中一个实验是，用一种局麻药阻断剂标记受体，已知这种阻断剂能够渗透并可阻断孔道。突变实验表明，所有亚单位中的 M2 片段内特定的氨基酸均与阻断剂交互作用，因此这些氨基酸肯定排列在孔道上。在另一个实验中，用半胱氨酸依次替代 M2 中的氨基酸残基，然后用能进入孔道并与半胱氨酸残基共价结合的化学试剂来探测通道，以找出 M2 中接近孔道的支链的特定氨基酸残基。已证明这种半胱氨酸扫描式突变法对于分析离子通道和其他蛋白质的各种结构特性极为有效。

应用高性能的**电子衍射分析**（electron diffraction analysis）技术研究烟碱型乙酰胆碱受体，使我们对其结构又有了新的认识。受体在电鳐膜上排列非常紧密，形成了一个二维晶体排列，用电子显微镜可以获得它的三维结构信息。运用这种先进的技术，Nigel Unwin 获得了烟碱型受体在开放和关闭状态下的图像（图 10-11）。从这些图像中，可以推断通道蛋白质的构象改变；这种改变似乎与通道的门控相关。有趣的是，用这种技术观察到的跨膜 α 螺旋的数量与由疏水区域所预测的并不一致。尽管 α 螺旋的确切数量仍存在争议，但我们再次被提醒，疏水性的预测仅仅提供了一种关于蛋白质结构

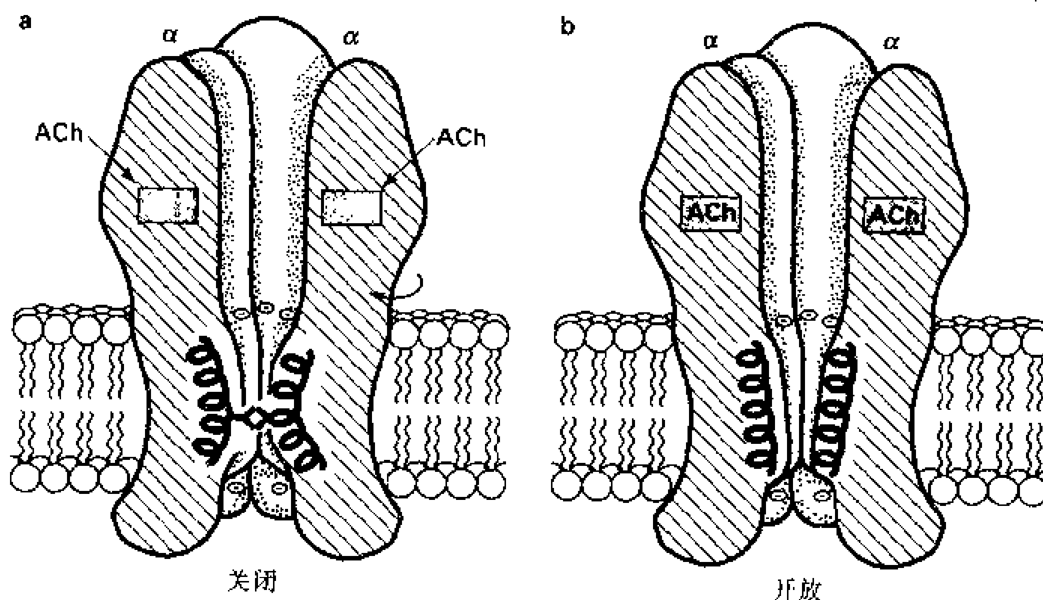


图 10-11 烟碱型乙酰胆碱受体/通道处于关闭（左）和开放（右）状态时的结构。本图是 Nigel Unwin 根据电子衍射分析结果绘制的（改自 Unwin，1993）。

的行得通的假说。

这些多种多样的技术对揭示电鳐和肌肉的烟碱型乙酰胆碱受体/通道的结构和功能之间的关系提供了越来越详尽的图景；与此相类似，也加深了对这一受体家族的其他成员的这一方面的了解。最重要的是，目前已有强有力的证据证明，在配体门控离子通道家族的这一原型中，神经递质结合位点和离子通道的确是同一大分子复合体的组成成分。

神经元烟碱型乙酰胆碱受体　尽管我们对电鳐和肌肉的烟碱型乙酰胆碱受体已作了详尽的研究，并有了充分的了解，但脑内也存在烟碱型受体。考虑到已充分证明了的烟碱对行为、认知和成瘾性的作用，脑内存在烟碱型受体这一点就不足为奇了。但是，由于脑内的这种受体大多数对α-银环蛇毒素——已证明对确定电鳐和肌肉烟碱型受体的特征非常有效——不敏感，因此对于神经烟碱型乙酰胆碱受体的认识较慢。分子克隆技术已证实，神经元的烟碱型受体存在两种亚单位家族，即α亚单位和β亚单位（表10-3)。至少存在8种不同的α亚单位基因（α2～α9），它们与电鳐/肌肉的α亚单位（编号为α1）有很高的同源性；至少有3种β亚单位基因，但它们与电鳐/肌肉的β亚单位（或任何其他亚单位）无相似性，而且常常被称为非α亚单位。在某些情况下，有功能的受体是由一些α亚单位和β亚单位组合形成的，而α7、α8和α9亚单位单独都能形成有功能的同聚烟碱型受体/通道。同时我们也看到，多基因产物的出现和异多聚体通道的形成使烟碱型受体/通道具有极大的多样性的潜力，这种多样性在天然的和异源表达的神经元烟碱型受体的药理学和生物学的特性上都有所表现（表10-3)。

表10-3　不同亚单位成分组成的一些神经元烟碱型受体的特性

亚单位组成	单通道电导（pS)	与乙酰胆碱结合的 EC_{50} 值（μmol/L)
α3β2	15	350
α4β2	20	0.7
α3β4	22	30
α7	45	110

修改自 McGehee 和 Role，1995

$GABA_A$ 受体　在其他配体门控离子通道系统中了解得很清楚的是哺乳动物脑中的 $GABA_A$ 受体。事实上，至少存在3种GABA受体：即不与它的离子通道直接偶联的 $GABA_B$ 受体；似乎局限于视觉通路的 $GABA_C$ 受体；以及我们将重点讨论的 $GABA_A$ 受体。应用特异的亲和层析法已纯化该受体。它的亚基结构与烟碱型乙酰胆碱受体相似。GABA的抑制作用源于与 $GABA_A$ 受体直接偶联的氯通道的激活（图10-12a。与之相反，烟碱型受体偶联阳离子通道，允许钠和钾的流动）。在前面章节中我们曾提到，GABA受体在药理学上作用很大，是许多临床上重要药物的作用位点。包括**苯二氮䓬**（benzodiazepine）类如广泛用于抗焦虑和松弛的**安定**（valium）和**利眠宁**（librium)；以及在抗惊厥和镇静方面有重要作用的**苯巴比妥**（barbiturate）类药物。这些药物通过增

强 GABA 对与受体直接偶联的氯通道的作用产生临床效应（图 10-12b）。$GABA_C$ 受体也与氯通道偶联，但对巴比妥类无反应，且其药理学特性也与 $GABA_A$ 受体不同。

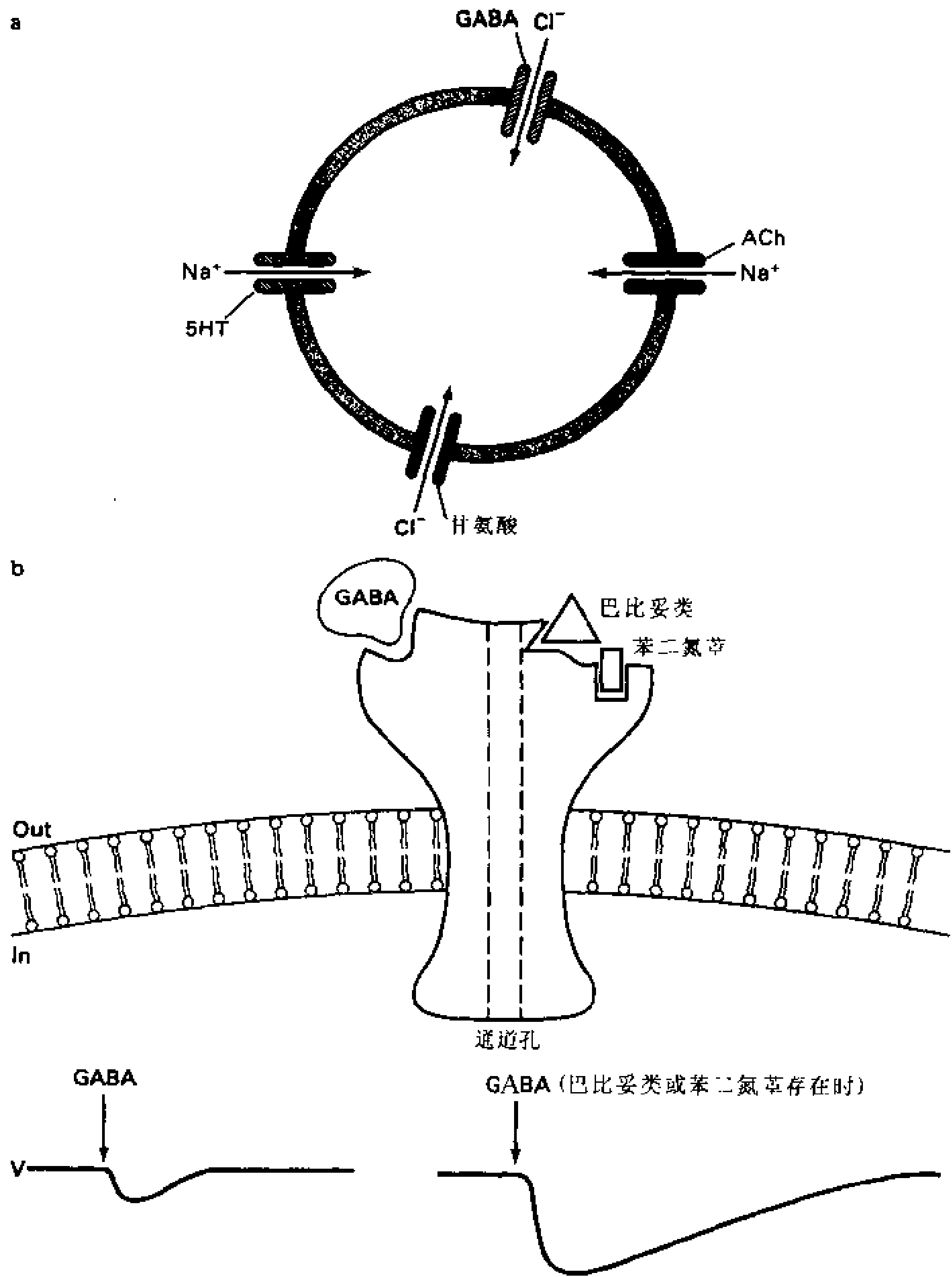


图 10-12 $GABA_A$、甘氨酸和 $5HT_3$ 受体。a：$GABA_A$ 和甘氨酸受体与氯离子通道紧密偶联。而烟碱型乙酰胆碱受体和 $5HT_3$ 受体与阳离子通道耦联。b：$GABA_A$ 受体-通道复合物具有巴比妥类和苯二氮䓬类药物的结合位点，它们能明显地增强对 GABA 的超极化反应。

用亲和层析法分离与苯二氮䓬结合的蛋白质，得到了纯化的 $GABA_A$ 受体。在纯化的复合体中，包含了天然神经元细胞膜 $GABA_A$ 受体的大部分药理学结合位点。该纯化

的复合体含有 α（MW 53 000）和 β 亚单位（MW 57 000）及其他亚单位，应用化学计量学分析，α 亚单位和 β 亚单位比例为 $\alpha_2-\beta_2$。通过对蛋白质序列的分析克隆出编码 α 亚单位和 β 亚单位的 cDNAs，这两种亚单位一起异源表达产生的 GABA 激活的氯离子通道，具有大部分、而不是全部的天然 $GABA_A$ 受体的特性。用克隆的 α 亚单位和 β 亚单位序列进行同源性筛选，得到 α 亚单位和 β 亚单位的多种亚型以及不同的 γ-、δ-和 ρ-亚单位克隆。只有 γ 亚单位与 α 亚单位和 β 亚单位一起表达时，苯二氮䓬的结合位点才存在于重组的 $GABA_A$ 受体中，表明有全部功能的受体必须至少含有 3 种不同的亚单位（然而，δ-和 ρ-亚单位的作用仍不清楚）。

多种亚单位基因（至少 15 种）的组合、mRNA 的选择性剪切以及异聚体复合物的需求，一起形成了 $GABA_A$ 受体的给人深刻印象的多样性。另一个惊人的发现是 $GABA_A$ 受体与烟碱型乙酰胆碱受体整体结构特征上的相似性：它们各个亚单位的推测的跨膜结构域在数量和分布上相同，亚单位一定区域的序列具有高度同源性，且二者的功能性受体/通道都是由几种不同亚单位组成的五聚体。

甘氨酸和 $5\text{-}HT_3$ 受体　　在中枢神经系统的某些部位，尤其是在脑下和脊髓，甘氨酸是较 GABA 更为主要的抑制性神经递质。在这些部位，甘氨酸的作用与 GABA 一样，都是通过激活与氯离子通道耦联的受体起作用（图 10-12a）。致惊厥药士的宁（strychnine）通过选择性地拮抗甘氨酸（而非 GABA）介导的抑制作用而阻断抑制，已应用于甘氨酸受体的检测和亲和纯化。该受体复合物由分子量分别为 48 000 和 58 000 的 α 亚单位和 β 亚单位组成，交联研究表明，完整的五聚体结构的分子量为260 000。α 亚单位和 β 亚单位基因与烟碱型受体和 $GABA_A$ 受体相应的亚单位具有明显的序列同源性及一致的预测结构，在推定的跨膜节段方面更是如此。多基因及选择性剪切造成了脑和脊髓中甘氨酸受体的异质性。

5-羟色胺（5-HT）是另一种存在多种受体的神经递质。其中的 $5\text{-}HT_3$ 受体，由于其快速启动和快速恢复的电效应，以及与配体门控通道家族其他成员整体结构的同源性，因此也属于配体门控通道家族。像烟碱型受体/通道一样，$5\text{-}HT_3$ 受体与阳离子通道直接耦联（图 10-12a）。一个非凡的实验证实，各种配体门控受体/通道间有紧密的关联，并发现结构域可以作为独立的功能单位发挥作用。一种嵌合的受体/通道复合体——由神经烟碱型受体的 α7 亚单位的氨基端结构域与 $5\text{-}HT_3$ 受体的跨膜区和羧基端结构域组成——形成了具有功能的受体/通道复合体，能被乙酰胆碱和其他烟碱型激动剂激活，但具有 $5\text{-}HT_3$ 通道的通透特性。

谷氨酸受体　　人们对谷氨酸受体的研究具有特殊的兴趣，部分原因在于谷氨酸是哺乳动物脑中主要的兴奋性神经递质，也在于普遍认为谷氨酸受体在学习和记忆模型中具有重要作用（参见第 18 章）。根据氨基酸序列、激动剂药理学及转导机制的不同，谷氨酸受体至少可分为 4 种亚型（表 10-4）。其中一种是**代谢型**（metabotropic）的谷氨酸受体，其信号通过细胞内第二信使转导，这种亚型将在下一章中讨论。其余的 3 种亚型，是配体门控离子通道或**离子型**（ionotropic）受体。根据各自最有效的激动剂而命名为：①**海人藻酸**（kainic acid，KA）受体；②**AMPA 受体**（α-amino-3-hydroxy-5-methyl-

4-isoxazole propionic acid，AMPA)；③**NMDA 受体**（N-methyl-D-aspartic acid)(图 10-13)。KA 和 AMPA 受体密切相关，而 NMDA 受体在功能和结构上都与它们不同。

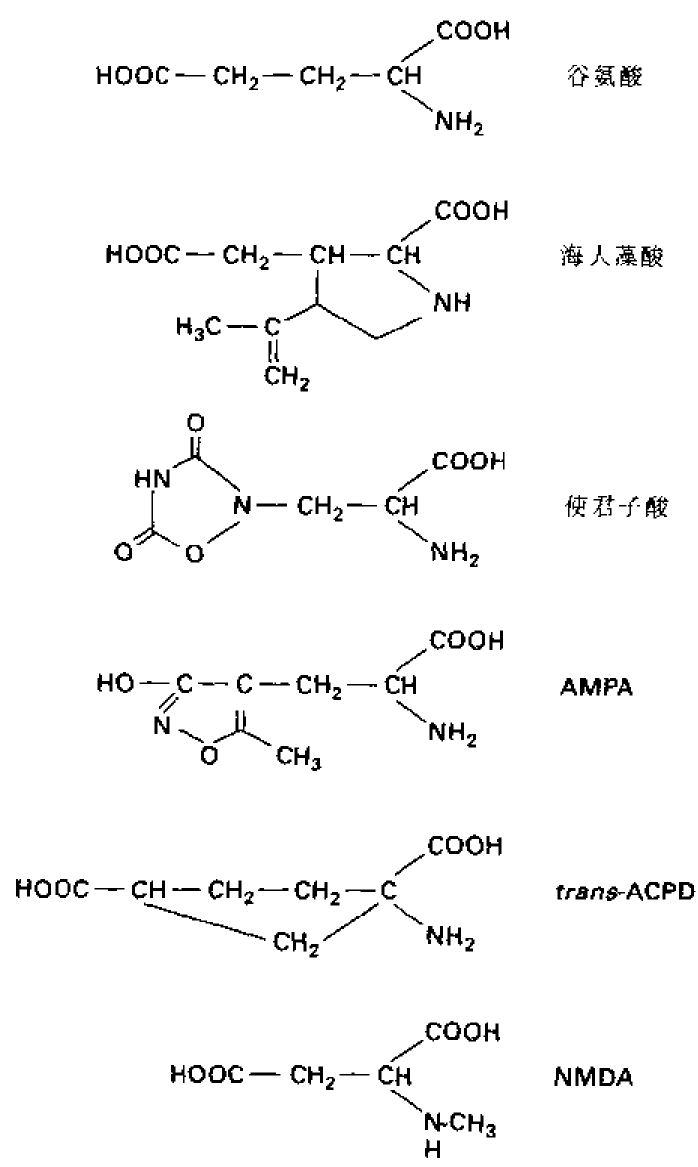
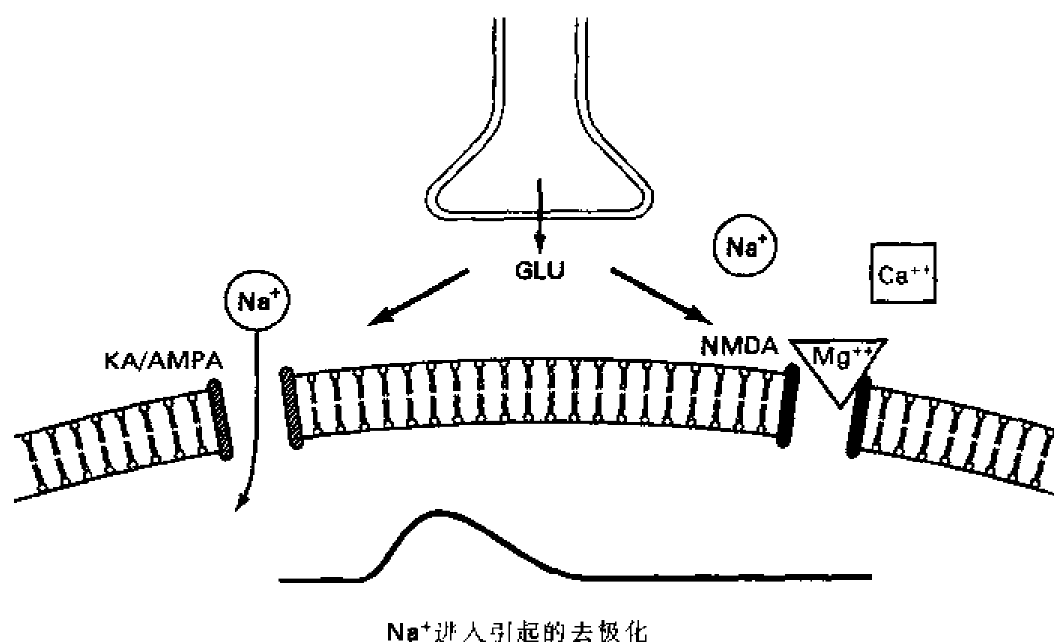


图 10-13 谷氨酸受体的配体。

表 10-4 谷氨酸受体的四种类型

受体亚型	克隆的亚单位	激动剂
AMPA	GluR1-GluR4	AMPA、使君子酸
KA	GluR5-GluR7	KA、使君子酸
	KA1-KA2	
NMDA	NMDAR1	NMDA
	NMDAR2A-NMDAR2D	
代谢型	mGluR1-mGluR6	反式 ACPD、使君子酸

a　弱的刺激只激活KA/AMPA受体通道



b　强的刺激产生的去极化足够解除镁对NMDA受体通道的电压依赖性阻断

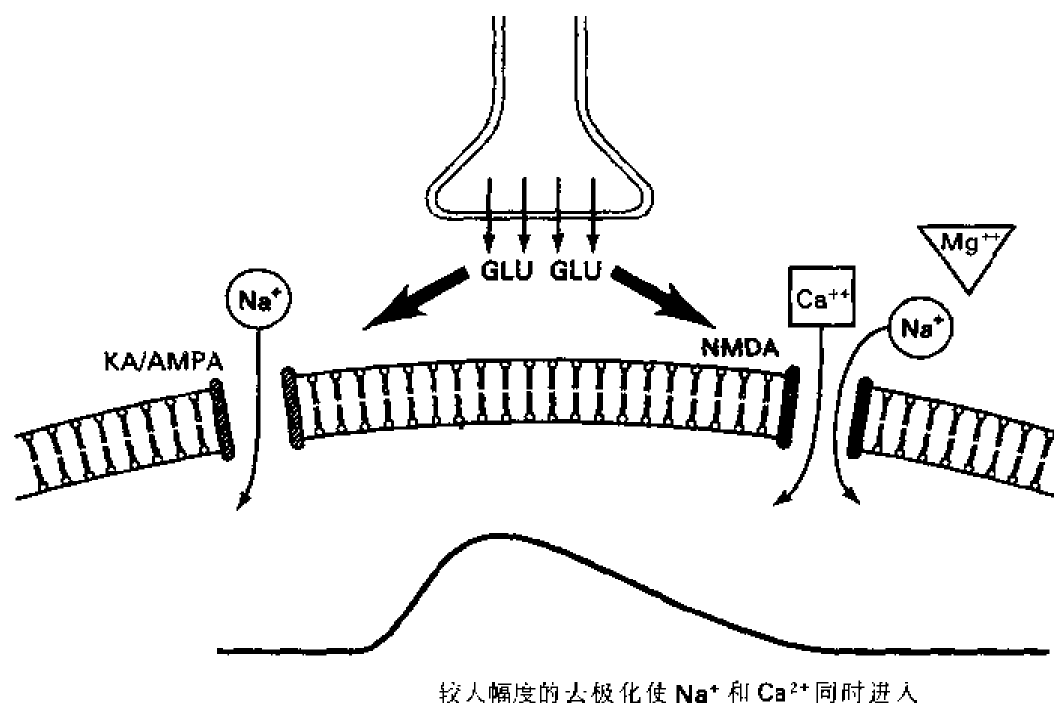


图 10-14　由谷氨酸受体亚型介导的不同类型的反应。a：弱的突触前刺激只激活 KA/AMPA 受体亚型。b：相反，较强的刺激在 KA/AMPA 和 NMDA 受体通道均引起离子电流。Philippe Ascher 及其同事（见 Nowark 等，1984）以及 Mark Mayer 和 Gary Westbrook（见 Mayer 等，1984）均证明，Mg^{2+} 电压依赖性地阻断 NMDA 受体通道。

由 KA 和 AMPA 受体所激活的离子通道的特性与 NMDA 受体的离子通道存在一个根本的不同点（图 10-14）。KA 和 AMPA 受体激活的阳离子通道，允许钠离子和钾离

子通过。当电位接近神经元的静息电位时，钾离子的驱动力较弱，而钠离子的驱动力则较强，因此这些通道的激活通过内向钠离子流而导致去极化（图 10-14a）。相反，NMDA 受体激活的阳离子通道不仅允许钠离子和钾离子通透，也允许钙离子通透（图 10-14b）。人们也许会认为这些通道的激活亦将引起去极化，并能与 KA 和 AMPA 受体通道产生的去极化叠加。但是，当电位接近静息电位时，并未产生这样的叠加，因为 NMDA 受体通道具有一个令人感兴趣的特性——即它们被细胞外的镁离子以电压依赖的方式所阻断。

图 10-14 显示了 NMDA 受体/通道的工作方式。当神经元电位接近静息电位时，镁离子结合于通道外侧，并有效地阻止其他离子通过孔道（图 10-14a）。然而，当细胞去极化时，镁离子从通道解离，从而允许其他离子自由通过（图 10-14b）。所以，通过 NMDA 受体通道的电流在膜电位去极化时较超极化时要大得多。因此，当细胞在谷氨酸存在时发生去极化，钙离子（和钠离子）就经 NMDA 受体通道内流（图 10-14b）。

由于存在不同受体耦联不同的离子通道，故靶细胞对作用于突触的不同强度刺激有不同的反应。中等的刺激只激活 KA/AMPA 受体通道，故产生较小的去极化，且没有钙离子内流。此时尽管有谷氨酸与 NMDA 受体结合，但并没有离子流经 NMDA 通道。用较强的刺激，使去极化足以解除镁离子对 NMDA 受体通道的阻断，可导致进一步的去极化及钙内流。

KA/AMPA 和 NMDA 受体的另一个重要的区别，在于 NMDA 受体的活性受到甘氨酸的影响，甘氨酸作用于不同于谷氨酸结合位点的另一个位点。事实上可以认为甘氨酸对于 NMDA 受体的激活是必需的，且可把它看作谷氨酸的**协同激动剂**（coagonist）。在高位脑区（而非脑干和脊髓），甘氨酸产生何种程度的调节作用仍然未知，但显然甘氨酸的参与提供了另一种精细调节 NMDA 受体活性的方式。

这三种离子型谷氨酸受体亚型的存在，也使靶细胞能够根据自身是否已在发放动作电位而做出不同的反应。作用于静息细胞的中等强度的刺激，将激活 AMPA 和 KA 通道，但它产生的去极化不足以激活 NMDA 通道。相反，相同的刺激作用于正在兴奋的神经元，由于其细胞膜产生了去极化，则可引起钙离子的内流。与之相似，或许是由其他已兴奋的神经元释放的甘氨酸，参与 NMDA 受体活性的调节，进而促进钙离子内流。正如我们在第十八章将会看到的，通过 NMDA 受体通道的钙内流可能触发突触后神经元特性的长时程变化。

谷氨酸受体的分子结构　要克隆谷氨酸受体很困难。像钾通道的情况一样（见第 6 章），由于缺乏丰富的来源及合适的配体使得谷氨酸受体蛋白的纯化很困难，而且也没有合适生物的突变型用于**定位克隆**。最终只能采用一种叫作**表达克隆**（expression cloning）的克隆策略（图 10-15）。这包括从表达这种受体的组织制作 cDNA 文库，将从这些 cDNA 文库中转录的 mRNA 注入非洲爪蟾的卵母细胞，然后检测卵母细胞中功能性谷氨酸受体的表达。这个 cDNA 文库被分成几个部分，每一部分所转录的 mRNA 都用相同的方法检测。将能产生功能性受体的部分进一步细分，直到最终获得编码功能性受体的单个 cDNA 克隆（图 10-15）。值得注意的是，使表达克隆法有效的前提是，功能性受体/通道应能由单一类型的亚单位形成。幸运的是，AMPA、NMDA 和代谢型谷氨

酸受体都属于这种类型，都是通过这种方法克隆出来的（图 10-15）。一旦获得了最初的克隆，即可通过序列同源性进一步克隆出大量的相关亚单位，包括 KA 受体的亚单位（表 10-4）。

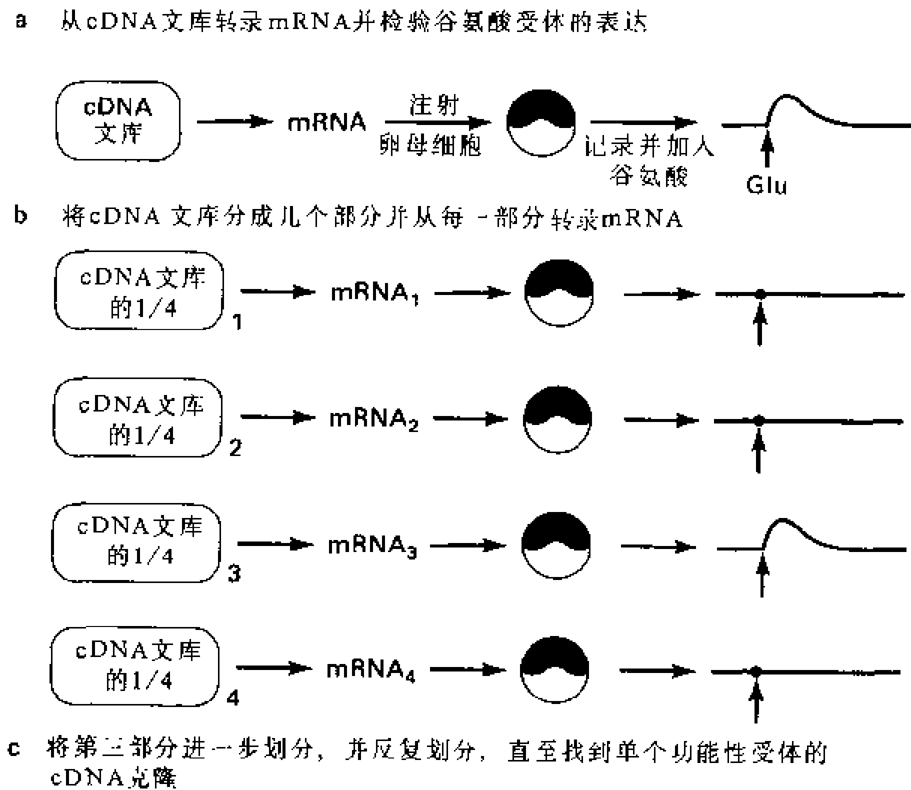


图 10-15 表达克隆。当同源性筛选和定位克隆不可行时，可通过其在非洲爪蟾卵母细胞中的功能性表达克隆受体和通道。

通过疏水性分析推测出在离子型谷氨酸受体的亚单位中含有 4 个跨膜段，而这些亚单位的大小是烟碱型受体、$GABA_A$ 受体、甘氨酸及 5-HT_3 受体的两倍，显然这些谷氨酸受体形成了一个独立的家族（图 10-16）。它们具有大的细胞外氨基末端结构域，可能是配体的结合位点，在 M1 和 M3 片段之间的区域可能并未完全跨越膜（也就是说，没有 M2 片段），而是伸入膜内后又折回而形成一个钾通道样的孔道区（图 10-16）。根据这一当前模型，M3 和 M4 之间的大环位于细胞外，而在其他的配体门控通道中则认为是位于细胞内（图 10-7）。

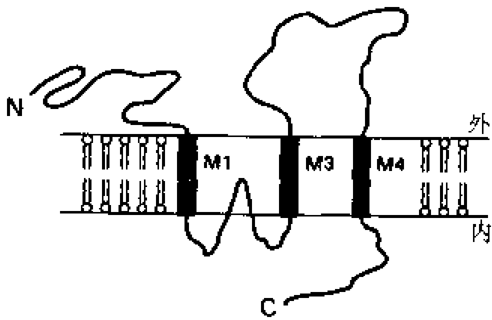


图 10-16 离子型谷氨酸受体家族成员的预测结构 与图 10-7 中其他配体门控通道相比较。

RNA 编辑决定谷氨酸受体的特性 在几种 AMPA 受体亚单位中有一个不寻常和令人吃惊的发现，即在孔道结构域，它们的 cDNA 序列不同于其基因的 DNA 序列。这并非是基因 DNA 转录成 mRNA（cDNA 源自 mRNA）时发生了错误。事实上，DNA 被忠实地转录了，其序列的不同来自 **RNA 编辑**（RNA editing），特别是在 mRNA 中

的腺嘌呤核苷经过酶的脱酰胺基作用被转变为次黄嘌呤核苷时。这种编辑的结果是原来编码孔道结构域内的谷氨酸残基的密码子（CAG）变成了编码精氨酸的密码子（CIG），导致了通道电导特性的巨大改变。最近在某些钾通道的 mRNAs 中也发现了 RNA 编辑。尽管仍不清楚在不同的细胞类型或不同的发育阶段可否调节 RNA 编辑，但这种新的机制为电压依赖性及配体门控离子通道的多样性提供了另一种途径。

小结

细胞如何应答环境信号的问题关系到细胞生物学的各个方面。因此，第 9 章所讨论的许多信号传递分子并不局限于神经系统，还可在许多其他类型的细胞中发挥作用也就毫不奇怪了。神经元和其他细胞对这些细胞外信号作出应答的共同特征，是浆膜上存在特异性的受体，不同类型细胞上的受体可能具有非常相似的结构和功能。药理学的研究早已认识到，一种神经递质可能存在几种不同的受体。这一点对神经网络中信息的处理方式有重要启示。随着许多受体的结构被阐明，这种异源性已得到证实。从这些结构的研究中已经浮现出一幅令人满意的图景——即根据较以前广泛得多的结构的、功能的和调节的同源性，许多受体可被分为不同的家族。

或许令人感到奇怪的是，受体家族分类反映受体的共同的转导机制，而不是共同的配体结合位点。配体门控离子通道就是这样一个例子。使这个家族的成员彼此联系的，首先是基于功能性的标准，即受体与受其调节的离子通道直接耦联。生化和分子的研究为把这些受体区分为两个亚家族提供了结构基础：一个是谷氨酸受体，另一个是其他的配体门控离子通道。序列同源性和预测的跨膜片段排列的显著相似性提示，一个亚家族内不同受体的各个亚单位可能由单一的祖先亚单位演化而来。演化过程中产生了受体位点的配体特异性和通道孔道的离子选择性。然而配体门控受体/通道复合体的本质上的总体结构设计保留了下来。我们将要讨论其他更为复杂的信号转导通路的分子细节。

11

受体和转导机制Ⅱ：间接偶联的受体/离子通道系统

靶细胞上的特异性受体对细胞外信号的识别不是细胞间通讯的最后一步，细胞还必

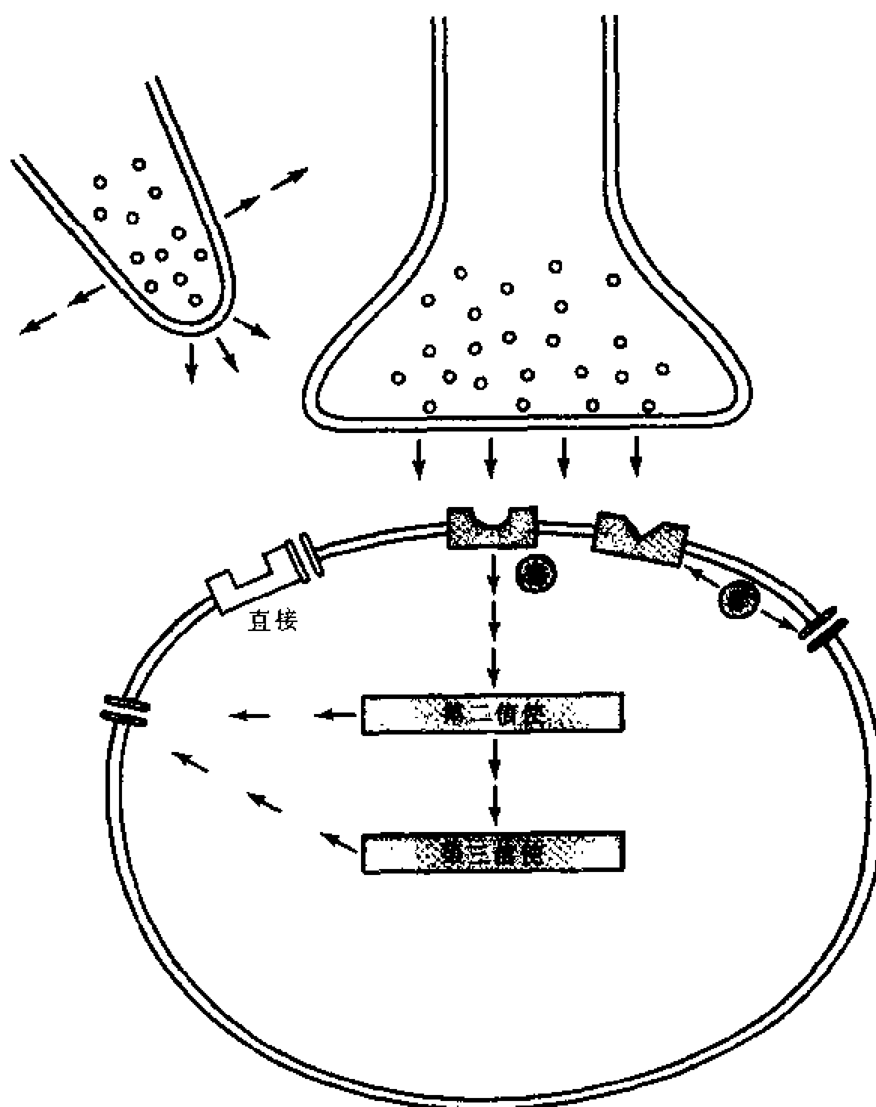


图 11-1 细胞间通讯。本章将讨论的转导机制，不是通过直接的受体通道偶联介导，而是通过胞浆膜平面内的蛋白-蛋白交互作用，或者细胞内的信使介导。鸟苷酸结合蛋白（G）在这些转导机制中发挥至关重要的作用。

须拥有**转导**（transduce）细胞外信号的机制，将外界信号转变成特定靶细胞所特有的某些生物反应。在神经元中，这些生物反应通常是对一个或多个膜离子通道的调制。我们已经知道，在配体门控离子通道家族中，识别和转导的任务由单一的蛋白复合体完成。其他的受体家族则通过细胞内更加复杂的生物化学变化来改变神经元的兴奋性（图11-1）。

G 蛋白偶联的受体/离子通通系统

大多数神经递质受体不是直接与受其调节的离子通道偶联。间接偶联的受体/离子通道系统是一个很大的（而且在不断扩大的）家族，它们的活动由**鸟苷酸结合蛋白**（guanyl nucleotide-binding protein）（或称 G 蛋白）介导。查看一下表 11-1 可以看出，初初看上去不同的 G 蛋白-偶联的受体几乎没有共同性。这个受体家族包括几种肽类受体、毒蕈碱乙酰胆碱受体亚型和大多数生物胺类物质的受体。除包括其他感受器受体外，它甚至还包括视觉色素——视紫红质，虽然视紫红质不会对某一信号传递分子起反应，但可以认为是对光的一种“受体”（见第 13 章）。请注意酵母和**黏菌**（slime mold）的**网柄菌属**（dictyostelium）的细胞类型与神经元相差很远，但它们的细胞表面受体也列于表中，借以强调神经元和其他种类细胞在信号转导机制上的共同性。

表 11-1　通过 G 蛋白转导细胞外信号的一些受体

K 物质受体 Substance K receptor
酵母交配因子受体 Yeast mating factor receptor
黏菌 cAMP 受体 Slime mold cyclic AMP receptor
黄体激素释放激素受体 Luteinizing hormone-release hormone receptor
毒蕈碱型乙酰胆碱受体 Muscarine acetylcholine receptors
肾上腺素受体 Adrenergic receptors
嘌呤受体 Purinergic receptor
代谢性谷氨酸受体 Metabotropic glutamate receptors
视紫红质 Rhodopsin
嗅觉受体 Olfactory receptors

为何我们要尽可能把这些不同的受体收集到同一张表中呢？就像前一章中描述直接偶联受体系统中的例子一样，他们中的许多是基于一个功能标准联系起来的——在这里都是通过 G 蛋白来转导细胞外信号。在这一章的稍后部分我们将会了解到，许多受体通过 G 蛋白来激活细胞内的酶而产生**第二信使**（second messengers）。这些可扩散的第二信使可能影响一系列包括离子通道在内的细胞内成分。现在也认识到，G 蛋白也可以**直接**（directly）作用于离子通道，从而调节它们的活动而不需要第二信使的介导（图11-2）。这种通过细胞膜上蛋白-蛋白的交互作用对离子通道特性的调制，同直接偶联系统中通过分子内部构象的改变来介导相比，启动可能要慢一些，但持续时间要长一些

（见图 10-8）。

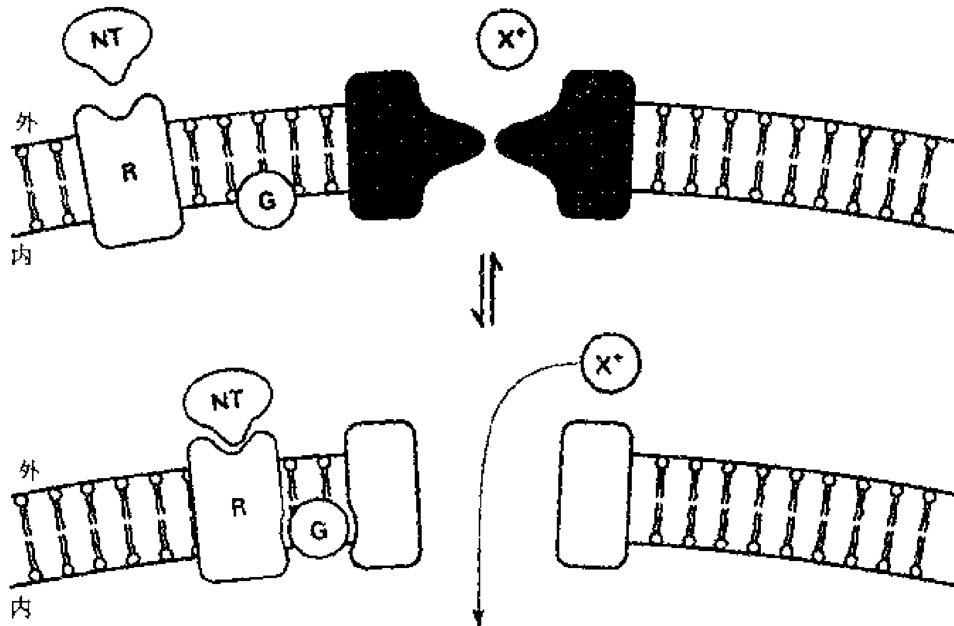


图 11-2 G 蛋白介导的受体通道偶联。不是所有的神经递质受体都像图 10-8 所示的那样与离子通道紧密相连。在本图所示的情况，神经递质（NT）与受体的结合激活 G 蛋白（G），G 蛋白再与离子通道交互作用，从而导致通道开放。

G 蛋白偶联的受体属于一个家族　　分子克隆已清楚地表明，表 11-1 中的受体分类的确是适当的。这个家族中第一个被测序的成员是一种视色素——**视蛋白**（opsin）。其序列的最显著的特点是存在 7 段结构，每一段由 20～28 个疏水的氨基酸组成，据推测这些结构大概表示跨膜结构域，显然这与直接偶联受体的四个跨膜区截然不同（见图 10-7）。当哺乳动物的一个 β 肾上腺素能受体随后被克隆和测序，也发现含有 7 个疏水性跨膜结构域，其氨基酸序列与牛的视蛋白具有明显的同源性。α 肾上腺受体也具有这样的特点，虽然在结合位点的药理学上，它们同 β 肾上腺素受体相比具有明显的差别。在第 10 章中我们已经指出，各种毒蕈碱型乙酰胆碱受体亚型也具有这些结构特点（见图 10-7）。

现在已经清楚，已获得其序列信息的那些 G 蛋白偶联受体家族中的所有其他成员也具有这种结构。最令人感兴趣的是，这种模式是如此的一致。那些转导机制还没有搞清楚的新受体仅凭其氨基酸序列就可以准确地归类到这一家族。这方面的一个很好的例子是 K 物质受体，K 物质是称为**速激肽**（tachykinin）的几种相关肽中的一种。这些肽类物质的生物活性之一是对感觉过程有重要影响。在它们的氨基酸序列被检测出来以前，K 物质作用的转导机制是不清楚的。然而，其氨基酸序列呈现有 7 个跨膜区，这一点使人们预测它可能与 G 蛋白偶联。同样地，介导谷氨酸的慢反应的**代谢型谷氨酸受体**（metabotropic glutamate receptors），不是像在第 10 章所描述的离子型谷氨酸受体那样与离子通道发生直接偶联，基于它们的分子结构，代谢型谷氨酸受体显然属于 G 蛋

白偶联的受体家族（表 11-1）。

G 蛋白是怎样工作的　要探讨 G 蛋白对离子通道的调制，我们必须首先考虑 G 蛋白的结构及其起作用的某些分子机制。G 蛋白是由一个 α、一个 β 和一个 γ 亚单位组成的异三聚体（图 11-3），并已知存在大量 G 蛋白。分子克隆已经确定了许多 α 亚单位的亚家族，以及多个 β 亚单位和 γ 亚单位。虽然 β 和 γ 亚单位在试管中的变性条件下会彼此解离，但是在生理条件下，是作为一个有功能的 βγ 复合物连在一起的。起初认为 βγ 复合物只是起到把 G 蛋白锚定到细胞膜上这一虽然重要但相当单一的作用，但在下面的内容中我们将会看到其作用远不止如此。膜的锚定是通过转录后修饰获得的，转录后修饰使类异戊二烯脂基共价结合到 γ 亚单位的位于或靠近碳末端的半胱氨酸残基上。脂质部分是极端疏水性的，故可紧密地同胞浆膜相连（图 11-3）。

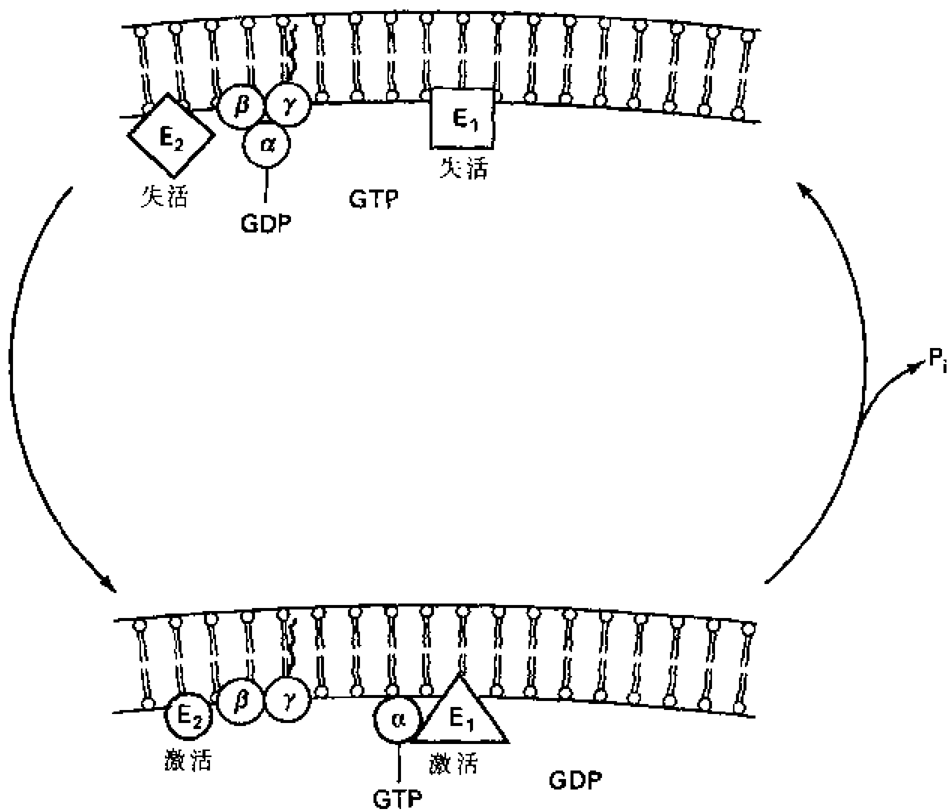


图 11-3　G 蛋白的作用机制。G 蛋白是由单个的 α、β 和 γ 亚单位组成的异三聚体，它们通过与 γ 亚单位共价结合的脂质群锚定到胞浆膜上。在 GTP 存在的情况下，α 亚单位从 βγ 复合体解离，α 亚单位和 βγ 复合体都能影响其他蛋白质的活性（E_1 和 E_2）。α 亚单位固有的 GTP 酶活性完成此循环。见 Neer（1995）的综述。

所有已知的 G 蛋白都是通过如图 11-3 所示的共同机制起作用的。在非活性状态下，G 蛋白 α 亚单位上特异的鸟苷酸结合位点同 GDP 结合。当 G 蛋白在膜表面移动时，偶尔遇到适当的与激动剂结合的膜受体（或者与转导蛋白的情况一样，转导蛋白是一种由光激活的视紫红质分子）。这种受体-蛋白的交互作用使 GTP 将 GDP 从鸟苷酸结合位点上置换下来，这种置换伴随着 α 亚单位从 βγ 复合体上解离，然后 α 亚单位和 βγ 复合体

都能与效应器系统发生作用并激活它们。效应器系统可能是一个如图 11-2 所示的离子通道，或一些酶（如图 11-3 中的 E_1、E_2）。α 亚单位自身具有 GTP 酶的活性，因此经过一定时间，结合的 GTP 被水解为 GDP。水解以后，α 亚单位再次与 βγ 复合体结合，进入下一个循环（图 11-3）。

目前已使用多种的生化探针作为工具证实上面的过程，并鉴定和分析 G 蛋白介导的生物反应。其中包括几种 GTP 类似物如 GTPγS 和 Gpp（NH）p 鸟苷酸酰亚胺二磷酸（guanylylimidodiphosphate），它们能从鸟苷酸结合位点上置换 GDP，但不被 GTP 酶水解。因此这些复合物像 G 蛋白的基本不可逆性的**激活剂**起作用。相反，GDP 的类似物 GDPβS 可与鸟苷酸结合位点结合得非常紧密，使 G 蛋白处于非活性的 GDP 状态，从而抑制 G 蛋白介导的反应。有两种细菌毒素也非常有用。**霍乱毒素**（cholera toxin）通过使 ADP-核糖共价结合到 α 亚单位的精氨酸残基上不可逆地激活一些 G 蛋白。**百日咳毒素**（pertussis toxin）通过催化 α 亚单位的同样的反应不可逆地抑制其他 G 蛋白的活性。

G 蛋白直接调制某些离子通道　　在本章的稍后部分我们将会看到，G 蛋白是通过控制第二信使的合成影响许多离子通道的活动。这种 G 蛋白间接参与的离子通道的调制看来是一个相当普遍的现象。然而，有些离子通道本身可以直接同 G 蛋白发生交互

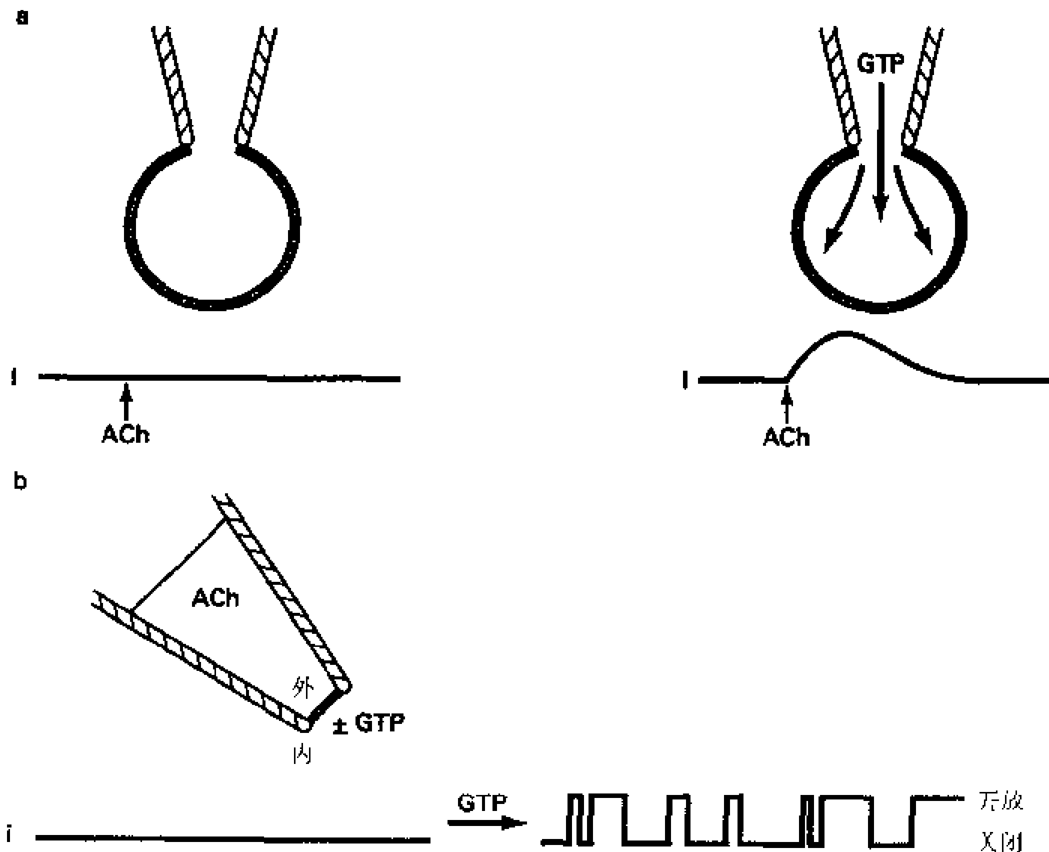


图 11-4　G 蛋白参与由乙酰胆碱引起的一种心肌钾通道的激活。乙酰胆碱与毒蕈碱型受体结合并激活心肌细胞内的钾通道。无论是通过全细胞记录（a）还是在分离的膜片内（b）测量，这种反应都需要 GTP（见 Pfaffinger et al., 1985; Breitweiser and Szabo, 1985）。

作用。也就是说，它的效应器系统（图 11-3 中的 E）不是一个酶，而是离子通道蛋白本身（图 11-2）。目前发现直接由 G 蛋白调节的离子通道正稳步增加。我们将通过研究心脏中的内向整流钾电流来探讨其作用机制，乙酰胆碱作用于毒蕈碱受体后，内向整流钾电流将增加。刺激迷走神经使心跳减慢是由 K_{ACh}通道负责的，这个发现具有重要的历史意义（见第 1 章描述的 Otto Loewi 实验），也是这种通道调制的第一个和最为彻底地阐明了的例子。

一系列证据表明，K_{ACh}的毒蕈碱型激活没有第二信使的参与。然而，人们发现，在全细胞记录中，只有把 GTP 或 GTP 类似物加入到电极内时，才能激活钾电流，从而提示 G 蛋白在这里面发挥了作用（图 11-4a）。而且，在分离的膜片上的通道，也会被应用于胞浆膜的表面的 GTP 所激活（图 11-4b）。另外，用百日咳毒素预先处理，就记录不到毒蕈碱型激动剂激活的钾电流。

将经 GTP 类似物预先处理激活的纯化 G 蛋白直接应用于含有 K_{ACh}通道的分离膜片的胞浆侧表面（图 11-5），可激活通道，证实 G 蛋白直接同通道发生交互作用或同与通道紧密联系的某些未知的调节蛋白发生作用。进一步的实验表明，当把分离的 α 亚单位或 βγ 复合物应用于膜片的内侧面，发现 βγ 复合物能调节通道的活性。这是第一次有迹像显示 βγ 复合物（以及 α 亚单位）能直接影响效应器系统，而且这些被 βγ 复合物激活的效应器的种类在不断增加。

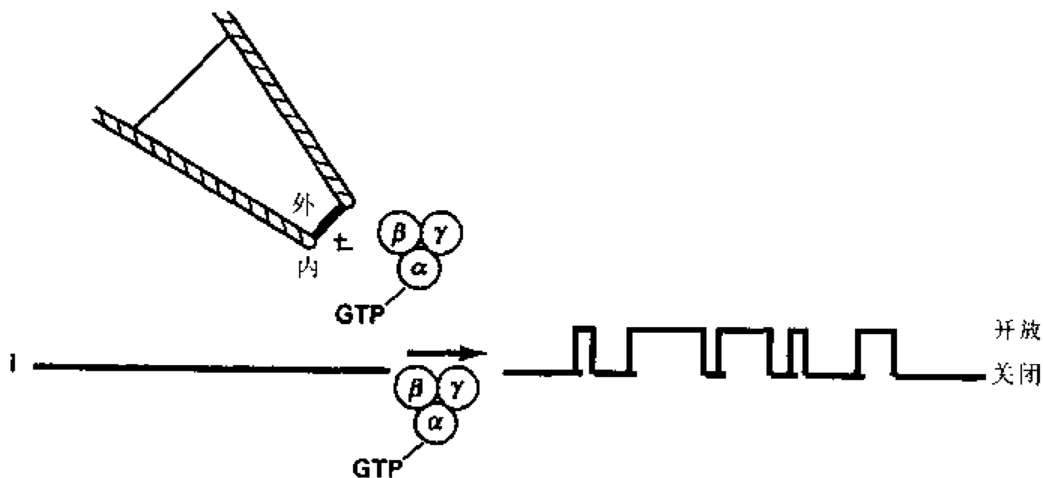


图 11-5 纯化的 G 蛋白能激活心肌毒蕈碱样钾离子通道。在事先经百日咳毒素处理使内源性 G 蛋白失活的分离的膜片上，加入活化的 G 蛋白能使钾通道开放（见 Logothetis 等，1987）。

内向整流钾通道：钾通道的另一家族 根据 shaker 基因的最初特征做广泛的同源筛选，未能将内向整流钾通道如心脏的 K_{ACh}通道克隆出来。像在前一章中描述的谷氨酸受体/通道一样，它们最终是通过表达克隆的方法克隆出来，而随后的同源筛选发现了一个明显不同于电压依赖性钾通道的内向整流钾通道大家族。预测的内向整流钾通道的结构令人感兴趣（图 11-6）。它们包括两个被推定的跨膜片段，位于序列与电压依赖性钾通道非常相似的一个孔道结构域的两侧。虽然细胞内的镁离子和（或）其他胞浆内的因子对通道的电压依赖性阻断可能起主要作用，但是产生内向整流的机制还不完全

清楚。同样地，虽然摘除通道蛋白的部分羧基末端能使 βγ 复合体对通道蛋白的调制丧失，但它的哪一个区域对特定的 G 蛋白亚单位敏感仍不清楚。有趣的是，其活动被细胞内 ATP 抑制的另一种内向整流钾通道（一种 K_{ATP}通道）似乎受 G 蛋白 α 亚单位的调控而不受 βγ 复合体的调制。鉴于 K_{ACh}和 K_{ATP}之间的共同性，也许仅仅微小的结构性差异就足以改变它们对 G 蛋白亚单位的特异性。

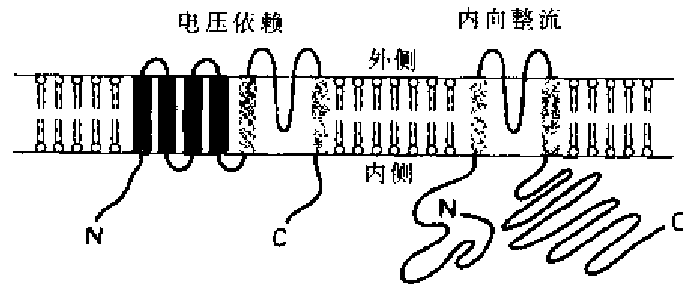


图 11-6 内向整流钾通道的预想结构（右）。内向整流和电压依赖性钾通道有一些共同的结构特征（浅灰色）。与图 6-11 比较。

第二信使偶联的受体/离子通道系统

第三类受体/离子通道的偶联是通过细胞内的第二信使的途径调制。在这种情况下，受体和通道不是单一大分子复合体的一部分（图 10-8），也不是在细胞膜的层面上直接

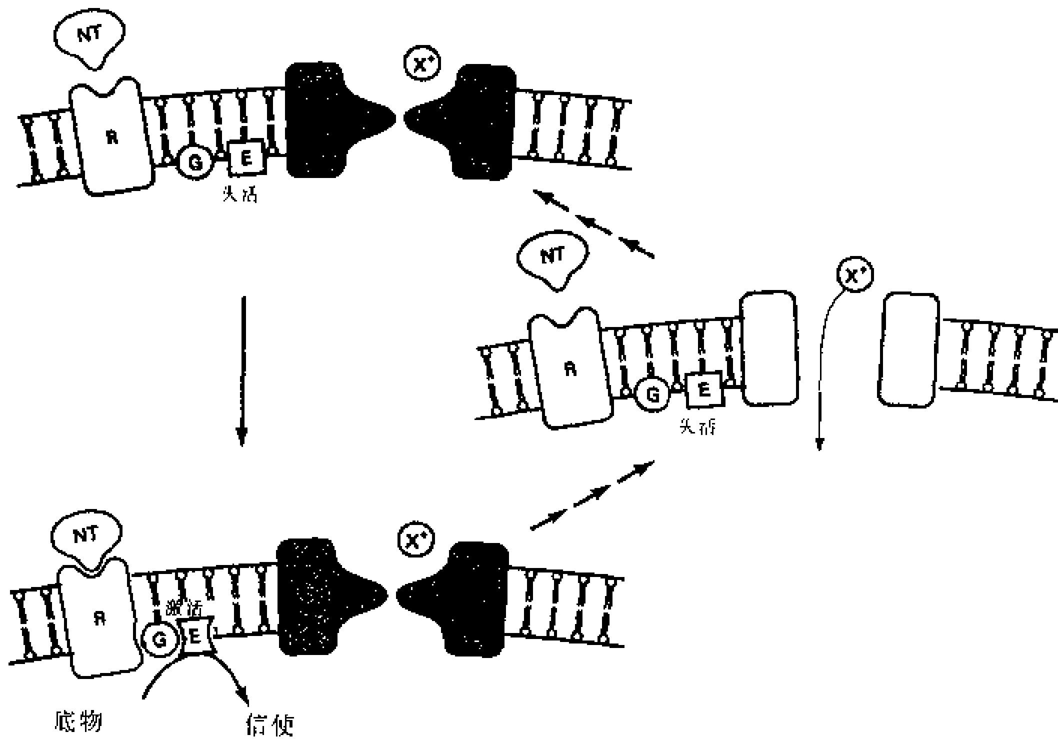


图 11-7 第二信使介导的受体/通道偶联。在某些情况下，神经递质受体和 G 蛋白都不和离子通道直接发生交互作用，而是通过细胞内第二信使影响离子通道的活性。和图 10-8 及图 11-2 形成对照。

发生交互作用（图 11-2）。而是受体通过 G 蛋白与一种酶偶联，酶的活性则由递质与受体的结合来调节（图 11-7）。当神经递质（所谓的第一信使）占据受体的结合位点时，酶被激活并催化细胞内第二信使的合成（图 11-7）。然后第二信使通过启动一系列活动最终影响或**调制**（modulates）离子通道的特性。请注意，像直接偶联系统一样，当递质从受体上解离后，通道的特性不会立即恢复到静息状态。而是在第二信使的作用被取消前，它对通道的调制一直存在（在图 11-7 的例子中，通道保持开放）。第二信使的作用被取消可能包含一系列的分子活动，需要数秒钟、数分钟或者甚至数小时。因此，通过第二信使的机制对通道的调制，在启动阶段可能会有延迟。而且，这种作用持续的时间远长于初始刺激，即递质占据受体位点的时间。

有关这种共同机制的一些其他特性也值得一提。首先，我们已经提到过，大多数第二信使通路包括 G 蛋白激活的酶。因此，也许可以认为第二信使介导的受体/通道偶联只是 G 蛋白偶联的特例，但事实上通过第二信使产生的暂时的分子复合物介导了这些反应，并已证实这属于另一类偶联机制。第二个重要的特性是，在第二信使介导的多步反应中，每一步都可以有级联放大效应（图 11-8），所以占据相对少量的受体就可以调制多个靶离子通路的活动。这种调制方式的必然结果是，某一种第二信使系统的激活可以使细胞膜上一种以上的离子通道发生协同的改变（图 11-8，也参见第 12 章）。而且，在调节离子通道活动的同时，一种第二信使也可以同时影响细胞的其他一些与离子流动无关的过程。很明显这些不是直接偶联系统的一般特征。

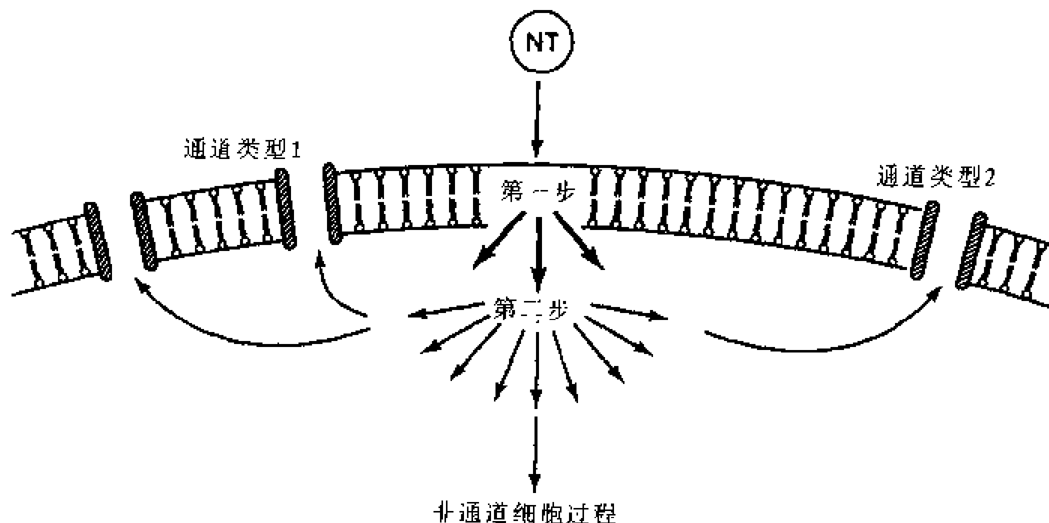


图 11-8 第二信使的放大效应。通过第二信使的偶联，一种单一的神经递质可能激活某一特定类型通道的许多个通道，或许多种类的离子通道，以及影响细胞内其他与离子通道不相关联的过程。

不同种类的第二信使

对由第二信使系统构成的巨大领域作一个全面的论述超出了本书的范围。实际上已有整本整本的书讲述每一个第二信使。在本章和下一章，我们将仅限于对被认为在神经元的兴奋性的调制方面起重要作用的一些通路作一概括。在本章我们将对第二信使产生

的生物化学及其作用机制作一个概述，解释神经调制现象中各个通路作用的特殊实验例子将在下一章中介绍。

我们将要详细讨论的特殊通路包括：

(1) 腺苷酸环化酶/cAMP-依赖性蛋白激酶系统；

(2) 鸟苷酸环化酶/cGMP-依赖性蛋白激酶系统；

(3) 磷脂酶介导的膜磷脂的代谢，该通路导致三个不同的第二信使——三磷酸肌醇(IP_3)、二酰基甘油(DAG)和花生四烯酸的产生。

然而，在我们讨论这些特殊的通路前，先考虑一下怎样鉴定由第二信使介导的离子通道特性的改变的问题。这种改变如果持续很长时间当然是很可能的候选者，但是这个标准很不明确。而细胞贴附式膜片钳技术为检测由第二信使介导的离子通道特性的改变提供了令人信服的手段，并且这种技术不依赖于第二信使的种类（图 11-9）。

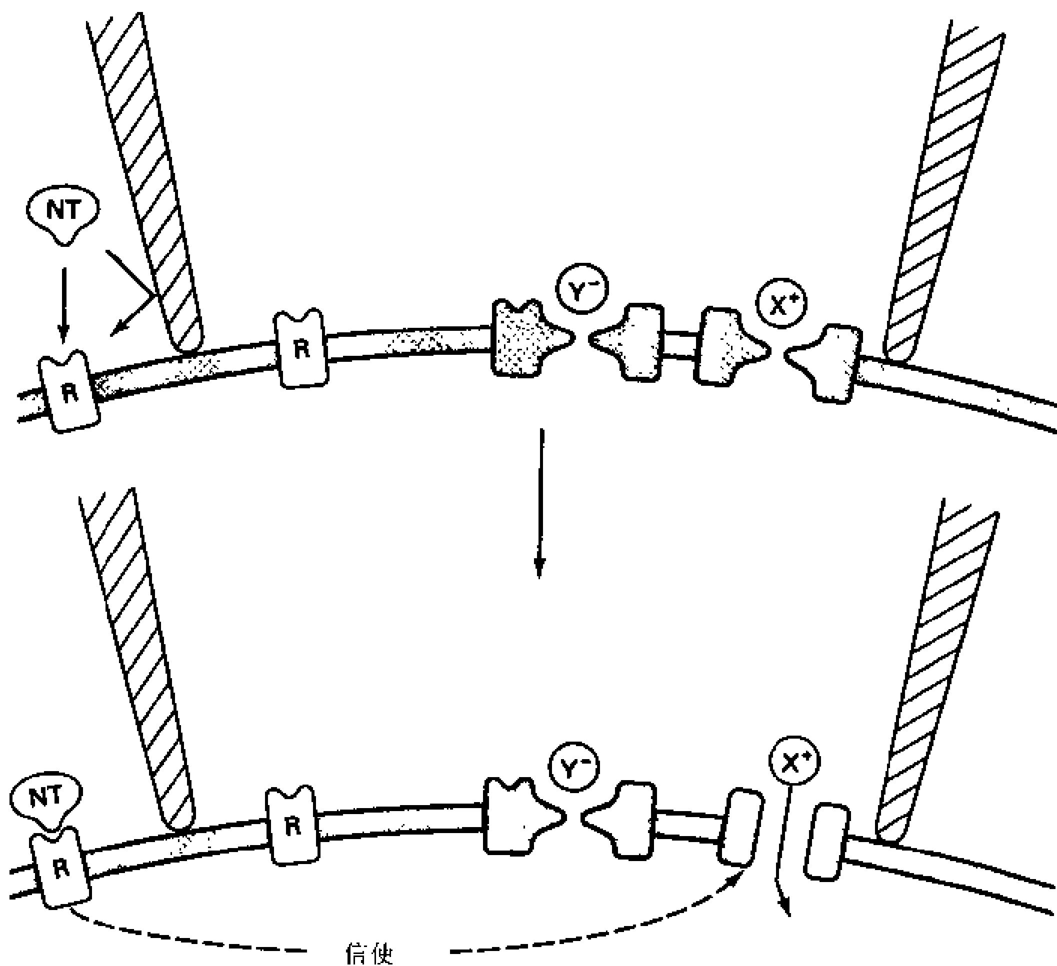


图 11-9 神经递质介导第二信使对离子通道的效应的试验。应用于膜片电极外的神经递质不能接近膜片内的受体。因此，它只能通过与膜片外的受体的交互作用来影响膜片内的离子通道。这些受体只能通过某些可扩散的细胞内信使与膜片内的通道发生信息联系。

膜片电极与胞浆膜之间的高阻密封阻止了神经递质（和其他）分子在细胞外浴液和电极内之间的流动。因而置于浴液介质内的递质不能接近膜片微电极里面的受体（图

11-9)。因此，膜片内的直接耦联的离子通道（图 11-9 中黑色所示）不能被电极外的递质激活。假如递质要激活膜片内的离子通道，它必须与电极外面的受体结合。而这些受体同膜片内的离子通道的信息联系的惟一途径是通过细胞内的一些可扩散的信使（图 11-9 底部）。这种检测的一个重要特点是不需要假定涉及的第二信使的身份。

腺苷酸环化酶/cAMP-依赖性蛋白激酶系统　Earl Sutherland 及其同事首先提出

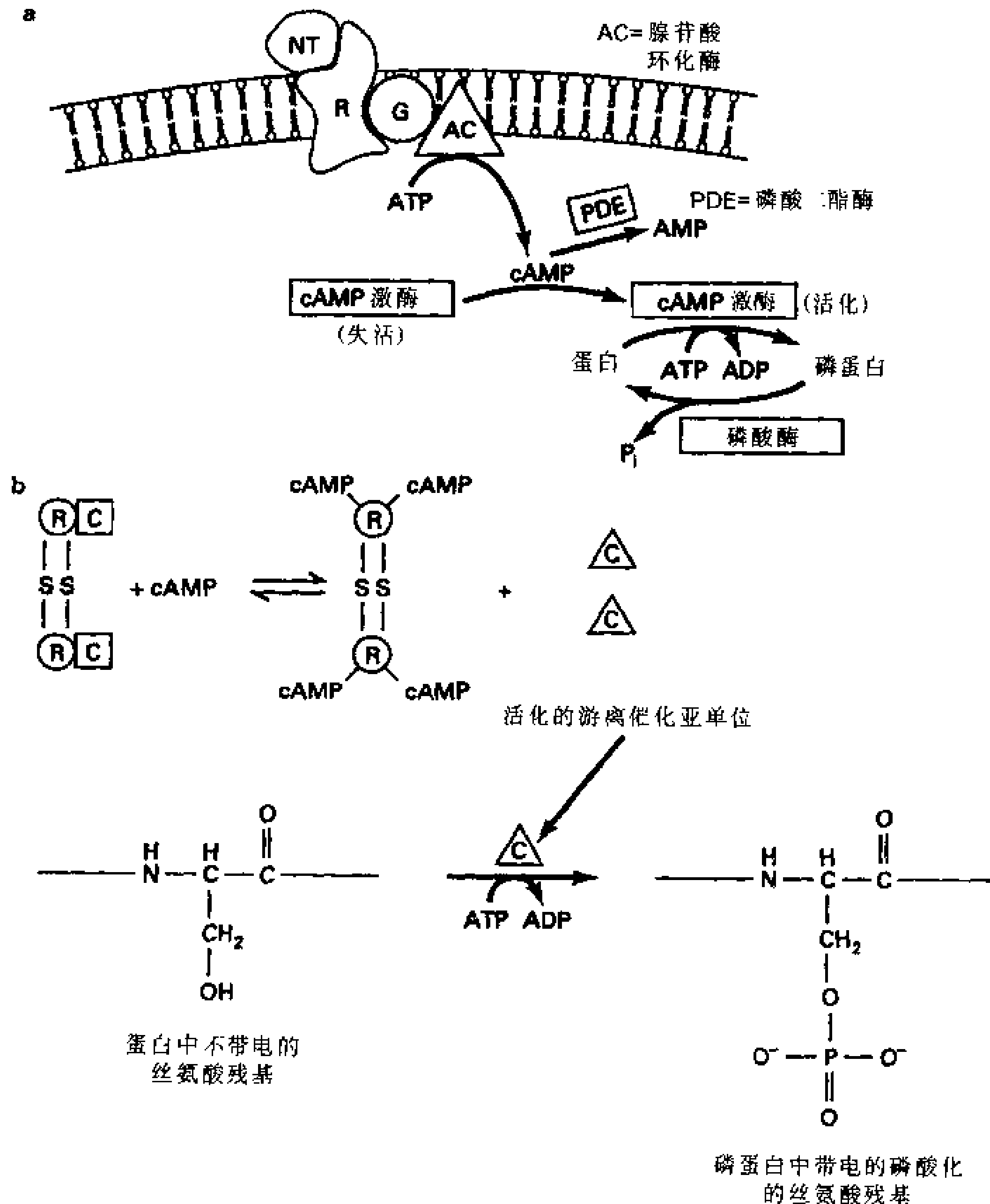


图 11-10　腺苷酸环化酶/cAMP 依赖性蛋白激酶系统。a：环磷酸腺苷（cAMP）由 ATP 经腺苷酸环化酶（AC）催化合成产生，并经磷酸二酯酶（PDE）降解。它可以激活 cAMP 依赖性蛋白激酶（cAMP 激酶）。b：cAMP 依赖性蛋白激酶是由两个调节亚单位（R）和两个催化亚单位（C）组成的一种非活化的全酶。cAMP 与调节亚单位结合，释放出有活性的催化亚单位。

了 cAMP 是介导由激素刺激引起肝糖原降低的第二信使。经过令人惊讶的很长时间，人们才承认它是神经细胞中某些神经递质反应的中间介质，而现在已经认识到存在许多这类由 cAMP 介导的反应。这个系统的主要成分在图 11-10a 中阐述。cAMP 由**腺苷酸环化酶**（adenylate cyclase）作用于 ATP 生成，腺苷酸环化酶通过特异的 G 蛋白和受体偶联。然后第二信使激活 **cAMP 依赖性蛋白激酶**（cyclic AMP-dependent protein kinase）。cAMP 依赖性蛋白激酶是由两种亚单位各两个组成的四聚体，这个全酶复合体是完全没有活性的。cAMP 与**调节亚单位**（regulatory subunits）的结合导致它们与**催化亚单位**（catalytic subunits）解离。游离的催化亚单位具有活性（图 11-10b），能催化 ATP 的末端磷酸转移到靶蛋白的丝氨酸或苏氨酸的羟基上而产生一个磷蛋白。有两种酶可以关闭这个系统——水解 cAMP 的**磷酸二酯酶**（phosphodiesterase）和使底物蛋白质脱磷酸的**磷蛋白磷酸酶**（phosphoprotein phosphatase）（图 11-10a）。

在下面我们将会看到，酶、离子通道或其他蛋白质的磷酸化可引起它们的功能特性的巨大改变。因此，特定细胞对 cAMP 浓度升高的反应方式取决于能够被 cAMP 依赖性蛋白激酶磷酸化的细胞特异性底物蛋白的特定组成。在第 12 章中列举了一些在神经和肌肉细胞中由 cAMP 介导的调制的例子。在很长的时间内，人们一直认为在真核细胞里，cAMP 的所有作用都是由上述的 cAMP 依赖性蛋白激酶所介导的。然而，现在已经认识到，cAMP 可以直接作用于一些离子通道，并激活这些离子通道而不需要通过激酶的活化。这在第 13 章我们讨论嗅觉上皮的感觉神经元时将会提到。

鸟苷酸环化酶/cGMP 依赖性蛋白激酶系统　cGMP 信号传导系统的基本成分（图 11-11a 和 11-12）在一定程度上与 cAMP 相似。已知一些细胞外的配体可以提高细胞内 cGMP 的水平，但是配体对应的膜受体与鸟苷酸环化酶（通常是可溶性酶）之间的偶联机制比了解得很清楚的 cAMP 系统知道得要少一些。对肽类激素**心钠素**（atrial natriuretic factor，ANF）而言，其受体的氨基酸序列在细胞内侧包含一段鸟苷酸环化酶的催化区（图 11-11a）。

通过 NMDA 受体起作用的谷氨酸也能够激活鸟苷酸环化酶并提高细胞内 cGMP 的水平，但是与鸟苷酸环化酶的联系不如 ANF 直接（图 11-11b）。钙通过 NMDA 受体/通道（见第 10 章）进入细胞激活钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶（第 8 章），然后能够磷酸化并激活**一氧化氮合成酶**（nitric oxide synthase，NOS）。NOS 催化常见的氨基酸——精氨酸，合成**一氧化氮**（nitric oxide，NO）气体，而 NO 是一个重要的生物信使分子。它激活的靶组织之一是鸟苷酸环化酶（图 11-11b），它通过与血红素中的铁高亲和力地结合而起作用，血红素是鸟苷酸环化酶的辅助因子。因为 NO 是一种气体，可以轻易地透过细胞膜扩散，其作用可能并不局限于产生它的细胞。在第 18 章中我们将会看到，在突触功能的长时程改变的一个模型中，NO 从产生它的突触后膜扩散到突触前终末，在该处可能影响神经递质的释放。

产生 cGMP 的所有问题都迎刃而解了，那么，神经元如何利用它呢？同 cAMP 一样，cGMP 可以直接作用于离子通道，例如，脊椎动物光感受器内的光依赖性离子通道（第 13 章）。然而，cGMP 的大多数作用是由 cGMP 依赖性蛋白激酶介导（图 11-12a），

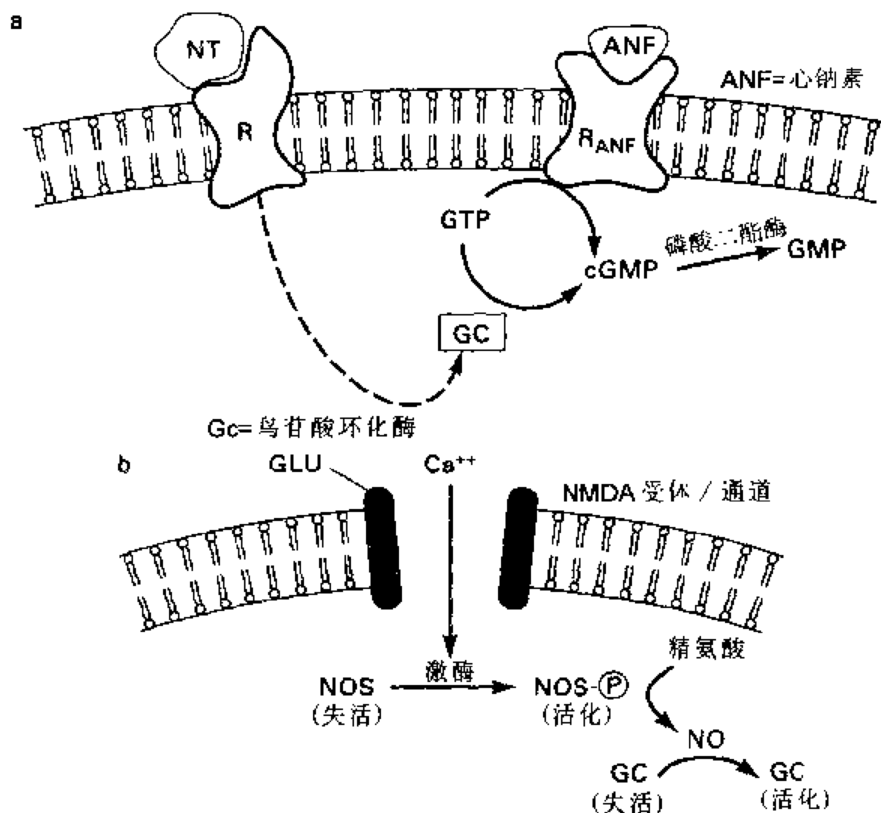


图 11-11 cGMP 的产生。a：经鸟苷酸环化酶（GC），从 GTP 产生 cGMP。GC 可能直接偶联到某些受体如 ANF 受体（R_{ANF}）。b：GC 能够由谷氨酸间接激活，通过 NMDA 受体和钙离子/钙调蛋白激酶 II 的作用产生气体 NO。

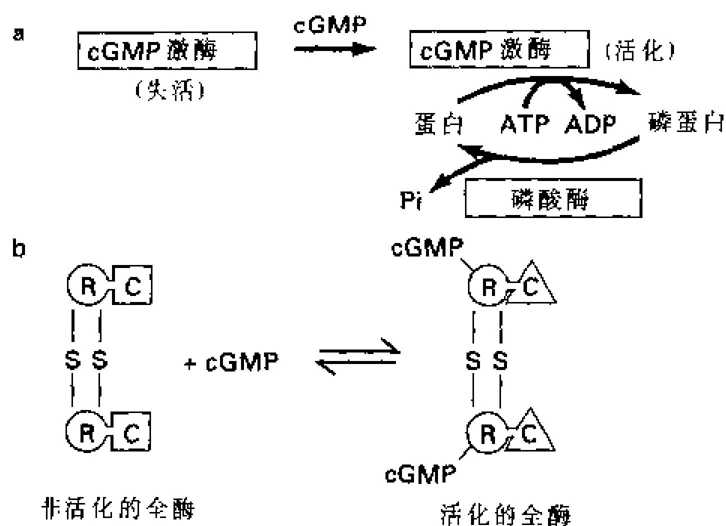


图 11-12 cGMP 依赖性蛋白激酶系统。a：cGMP 能够激活一种 cGMP 依赖性蛋白激酶。b：cGMP 依赖性蛋白激酶是一个非活化的全酶，其调节和催化结构域位于一个单一的亚单位上。

该蛋白激酶是一个二聚体，两个相同的亚单位由二硫键连接（图 11-12b）。每一个亚单位含有 cGMP 的一个结合区，其氨基酸序列同 cAMP 依赖性蛋白激酶调节亚单位上的 cAMP 结合区具有同源性。类似地，每一个亚单位上的催化区同 cAMP 依赖性蛋白激酶的催化亚单位也具有同源性。然而，在 cGMP 依赖性蛋白激酶激活过程中没有两个亚单位的解离。而是与 cGMP 的结合导致其构象改变，暴露并激活了其催化区（图 11-12b）。cGMP 在神经调制中的作用比 cAMP 所知的要少，不过，在神经细胞的离子通道的调制中，有几个例子显然是由 cGMP 依赖性蛋白激酶磷酸化所介导的。

膜磷脂更新　Lowell 和 Mabel Hokin 在 1952 年首先证实，乙酰胆碱和其他神经递质或激素可以引起较小的膜**磷脂酰肌醇**（phosphatidylinositol，PI）分解和再合成(更新)。然而，几乎 25 年后，人们才广泛地认识到 PI（和其他磷脂）能参与信号转导。这一领域在最近十年发展迅速，实际上是突飞猛进。这与发现得比较晚，却很快地被证实为重要的第二信使分子的环核苷酸形成了鲜明的对比。为何 PI 的研究进展历时那么久呢？可能因为脂类的生物化学研究很难进行，作出这一推测很令人感兴趣。只有很少一部分勇敢的生化学家投入到这些复杂的、不溶于水的磷脂的研究中，而大多数人在磷脂研究而前退缩，尽快地把脂类抛在一边，以免干扰他们对蛋白质的研究工作。无论如何，这个时期现在已经过去，在 20 世纪的最后几年，每天都会有新的发现证明磷脂代谢在信号转导中的极端重要性。

一个关键性的突破是，由激动剂刺激其代谢的磷脂并非 PI 本身，而是 PI 的双倍磷酸化的衍生物**磷脂酰肌醇－4，5－二磷酸**（phosphatidylinositol-4，5-bisphosphate，PIP_2）。如图 11-13a 所示，许多受体通过 G 蛋白与膜上的酶**磷脂酶 C**（phospholipase C，PLC）偶联。磷酯酶 C 作为磷酸二酯酶，把 PIP_2 分解成溶于水的 **1，4，5－三磷酸肌醇**（inositol 1，4，5-trisphosphate，IP_3）和留在膜上的**二酰基甘油**（diacylglycerol，DAG）。**花生四烯酸**（arachidonic acid，AA）常常是位于 PIP_2 中的甘油骨架第二位上的脂肪酸（图 11-13b），在另一个膜磷脂酶——磷脂酶 A_2（phospholipase A_2）的作用下从 DAG 上释放出来。磷脂酶 A_2 也可能直接从 PIP_2 中释放出 AA。所有这三个产物——IP_3、DAG 和 AA——都是重要的第二信使。

这三个第二信使的作用机制归纳于图 11-14 中。IP_3 在胞浆中扩散并与内质网上的特异性受体结合。这种结合打开内质网上的一种钙通道，因而钙离子从内质网管腔的储存部位中被释放入胞浆中（图 11-14a）。在后面我们将会讨论到，胞浆中钙浓度的升高会影响离子通道的活动和无数的别的细胞功能。

相反，DAG 保留在细胞膜上。DAG 的增多引起**蛋白激酶 C**（Protein kinase C，常常称为 C 激酶）从胞浆转移到膜上。蛋白激酶 C 是催化底物蛋白（其中一些是离子通道）内的丝氨酸和苏氨酸残基磷酸化的蛋白激酶家族的另一成员。蛋白激酶 C 只有与膜相连并与 DAG 结合才能活化（图 11-14a）。在图 12-6 中可以看到由蛋白激酶 C 介导的神经调制的特殊例子。

在试管中加入 DAG 和磷脂酰丝氨酸，可激活蛋白激酶 C，在这里磷脂酰丝氨酸显然替代了细胞膜的作用。另外，一系列称为**佛波醇酯**（phorbol ester）的化合物（首先被发现是致癌剂）是有用的药理学工具，无论在试管内还是加入到完整的细胞内，均可

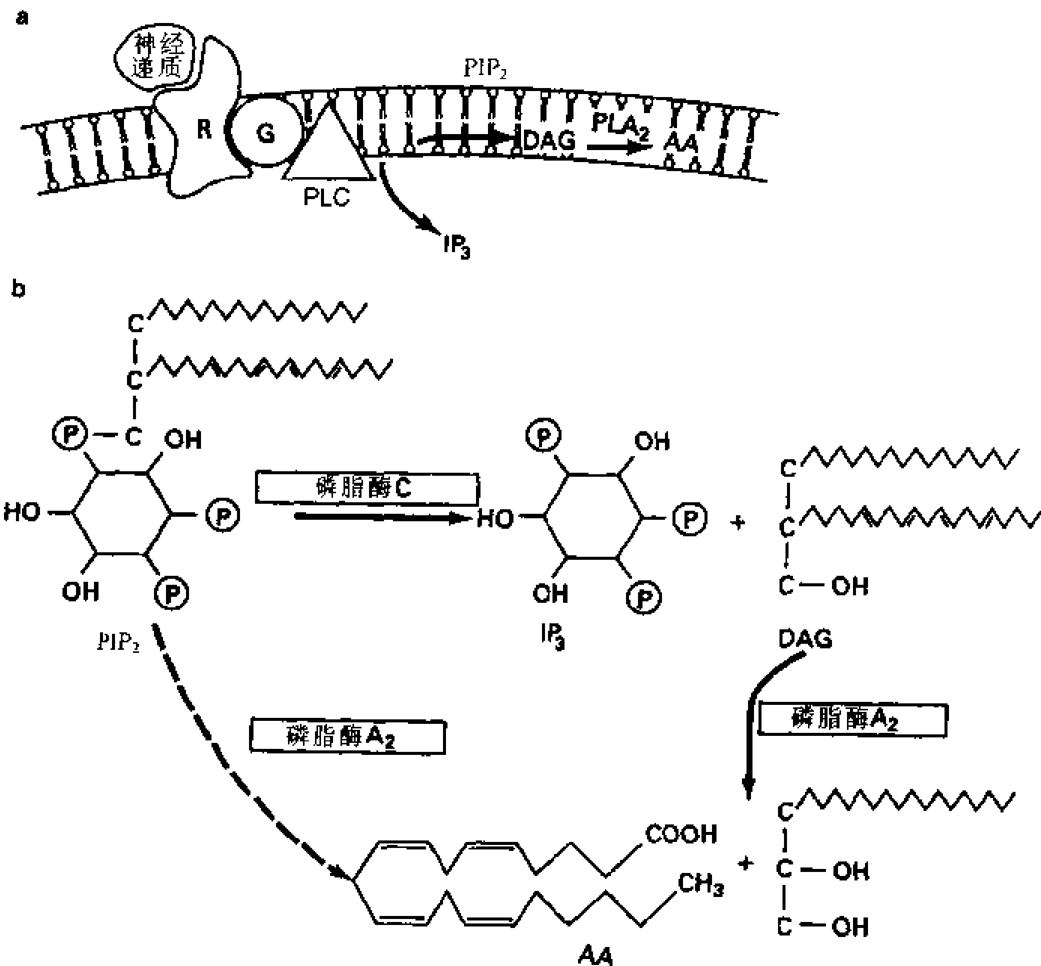


图 11-13 从多磷酸肌醇（polyphosphoinositide）产生的三种第二信使。a：一些神经递质受体（通过 G 蛋白）偶联到磷脂酶 C（PLC）上。b：从多磷酸肌醇降解产生的第二信使的化学结构（见 Berridge 的综述，1987）。

代替 DAG 的作用激活蛋白激酶 C。PIP_2 可能不是 DAG 的最重要的来源。PIP_2 是一个微小的磷脂分子，由激活剂刺激产生的 DAG 的量往往特别大，仅仅由 PIP_2 解离产生是不够的。然而，从一些激活剂激活一种**磷脂酶 D**（phospholipase D）（也是通过 G 蛋白），而磷脂酶 D 能催化**磷脂酰胆碱**（phosphatidylcholine）（主要的膜磷脂）释放磷脂酸。然后磷脂酸进一步代谢为 DAG。这种途径提供了一种产生 DAG 和激活蛋白激酶 C 而不需要同时激活 IP_3 钙释放系统的机制。

磷脂代谢的第三种第二信使产物 AA 的作用现在知道的比较少。AA 可以通过几种不同的途径代谢，每一种途径都会产生包括前列腺素和**白三烯**（leukotriene）在内的生物活性产物（图 11-14b）。另外，AA 在大脑中可以作为一种蛋白激酶 C 的活化剂。

脂类信号转导实际上比上面叙述的更加复杂。现在已知道，磷脂酰肌醇-1，4，5-三磷酸（PIP_3）存在于细胞膜上，虽然其功能仍不清楚。另外，受体介导的一种称为**髓鞘磷脂**（sphingomyelin）的复杂的膜脂质的水解，可产生几种可能作为细胞内第二信使的产物。无疑，在这个领域还会有许多惊奇的事物有待发现。

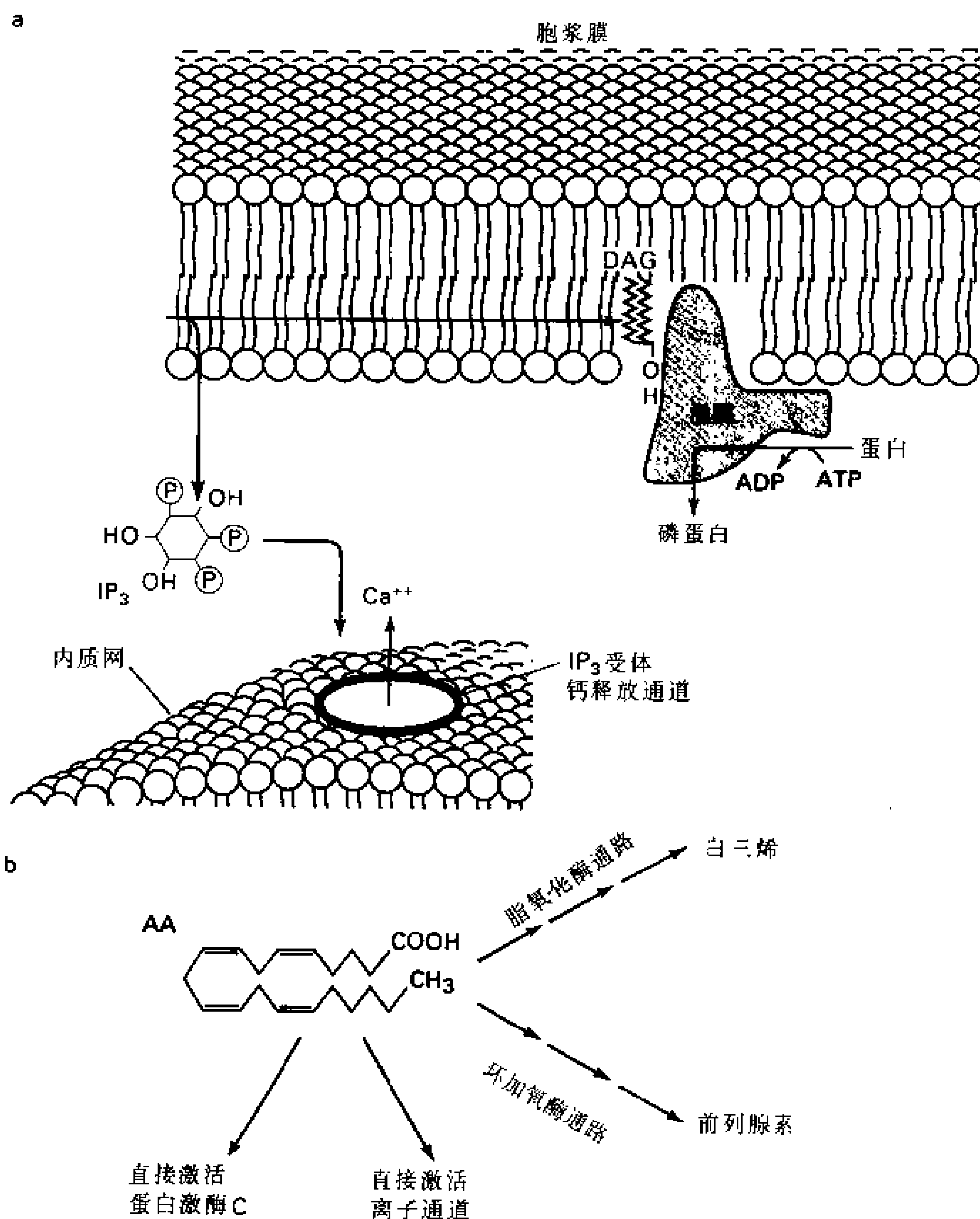


图 11-14 从磷脂产生的第二信使的作用机制。a：DAG 激活一种称为蛋白激酶 C 的蛋白激酶（C 激酶）。IP_3 使内质网膜上的钙离子通道开放（见 Berridge，1987；Nishizuka，1986；以及 Divecha 和 Irvine；1995 的综述；示意图修改自 Berridge，1985）。b：花生四烯酸（AA）可能直接激活蛋白激酶 C 或某些离子通道。它也能经代谢生成**白三烯**（leukotriene）和**前列腺素**（prostaglandin）。

G 蛋白偶联受体的下调　我们已简要地提到过，许多神经递质会被下调，通常也称为**脱敏**（desensitization）。该术语指细胞持续或多次受到同一种递质的作用时，对递质的反应会进行性地降低。在某些情况下，脱敏源于受体的**内在化**（internalization），即通过对含有受体分子的膜囊泡的修剪和内在化作用使受体从胞浆膜上移走（图 11-15a）。这种激动剂依赖性过程在某些生长因子受体上了解得最清楚，它对于 β 肾上腺素

受体的调节可能也很重要。内在化可以导致受体在细胞内的降解，虽然至少在某些情况下内在化的受体可以再循环回胞浆膜上（11-15a）。

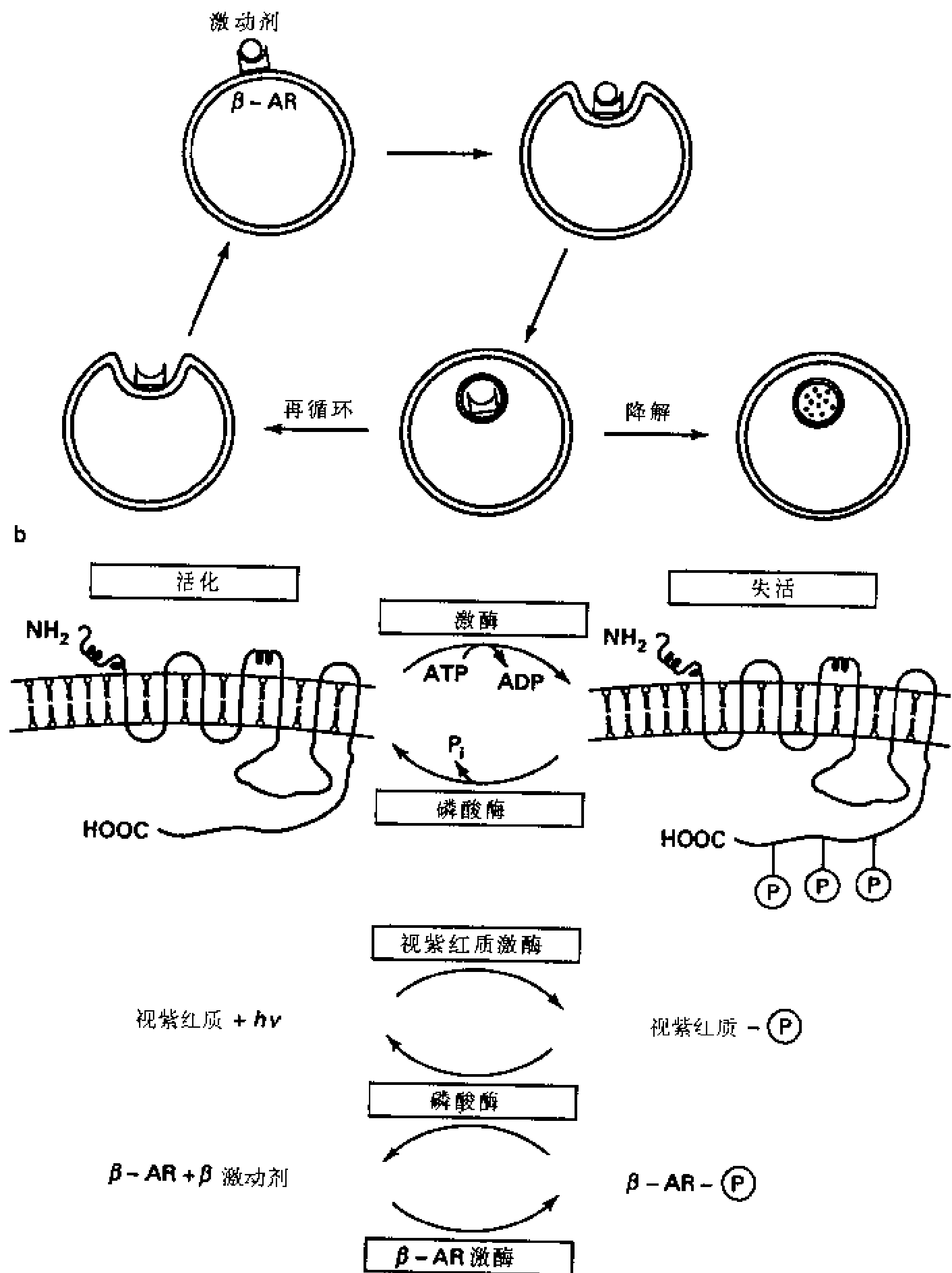


图 11-15　受体下调。a：激动剂占据的受体可能通过胞吞内在化，然后或者再循环到细胞表面，或者降解。b：G 蛋白偶联的受体家族成员，如视紫红质受体或 β 肾上腺素能受体（β-AR）也可能通过磷酸化作用下调，这种下调可以通过磷蛋白磷酸酶逆转。

G 蛋白偶联的受体家族的几个成员也可以通过磷酸化被下调。光感受器含有一种**视紫红质激酶**（rhodopsin kinase），这种酶可以特异地磷酸化光激活的视紫红质，从而降

低它对光的敏感性（图 11-15b）。激动剂占据的β肾上腺素受体可被 cAMP 依赖性蛋白激酶以及一种更特异的 **β-肾上腺素能受体激酶**（β-adrenergic receptor kinase，βARK）磷酸化和下调（图 11-15b）。在 G 蛋白偶联的受体的碳末端（在膜的胞浆面）存在许多丝氨酸和苏氨酸残基，是潜在的磷酸化位点。这些残基及其邻近的氨基酸序列在该受体家族的其他成员中也存在，它们中的一些也可以通过磷酸化下调。在第 12 章中我们将会看到，几种不同蛋白激酶的磷酸化也参与了配体门控性受体/通道家族的至少一种成员，即烟碱型乙酰胆碱受体的脱敏，因此，这种机制可能广泛存在。

钙信号传导

胞浆中的游离钙在神经元的信号转导过程中起着广泛的作用。它的浓度比细胞外钙浓度或细胞内钙库内的钙浓度要低 4 到 5 个量级，并且受各种泵和结合蛋白的严密调节。胞浆钙离子的一个重要来源是通过电压依赖性钙通道跨过细胞膜进入细胞内；另一个来源是由内质网内的钙储存部位释放，尤其是在 IP_3 的影响下。

细胞内的钙释放通道　IP_3 如何引起钙从内质网储库里释放出来呢（图 11-14）？IP_3 是通过与 **IP_3 受体**结合而引起钙的释放，IP_3 受体是位于内质网膜上的一个配体门控离子通道。IP_3 受体/通道是由大分子（约 300 kDa）的蛋白亚单位构成的四聚体，每个亚单位可划分为三个结构域（图 11-16a）：一个配体结合结构域、一个调制/转导结构域和一个通道结构域，其中通道结构域包含六个跨膜节段和一个与电压依赖性离子通道相关的孔区（见第 6 章）。通过把内质网膜重组到人工的磷脂双分子层上，或者通过膜片钳制分离的核（内质网膜与核膜相连续），可以观察到由这些亚单位形成的 IP_3-门控离子通道（图 11-16b）。它们是阳离子选择性通道，在许多方面与胞浆膜离子通道相似（图 11-16b）。

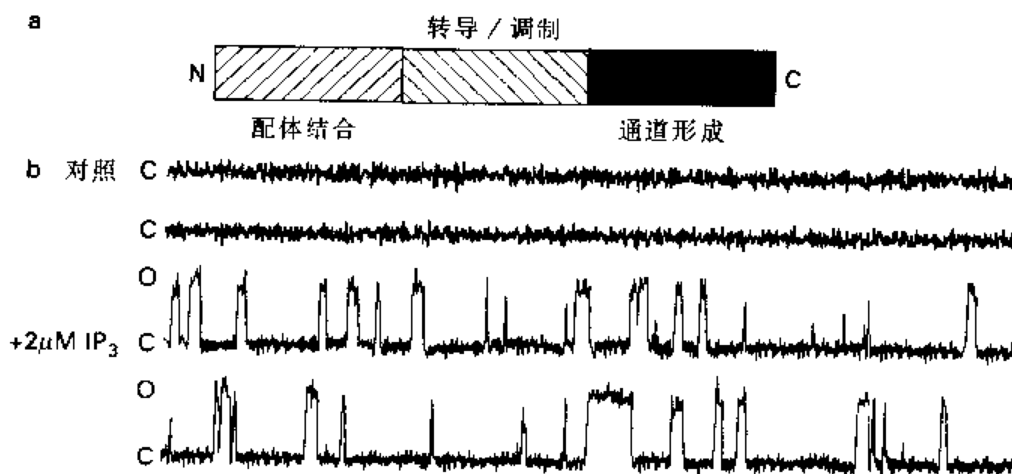


图 11-16　钙释放通道。a：IP_3 受体和 ryanodine 受体的结构域（修改自 Furuichi 等，1994）。b：IP_3 受体/通道在人工双层膜上重组的一个例子。该通道是关闭的（C），只有在存在 IP_3 的情况下才开放（O）（引自 Barbara Ehrlich 及其同事的实验）。

神经元和其他细胞也含有一个称为**ryanodine 受体**（ryanodine receptor）的内质网钙释放通道，它本身在胞浆钙浓度升高的情况下开放。因而，经过胞浆膜电压依赖性钙通道进入细胞的钙能激活 ryanodine 受体/通道，并导致钙的再生式的释放。也可能通过 IP_3 受体/通道释放入胞浆的钙能激活邻近的 ryanodine 受体/通道，从而使细胞内钙信号传递的方式复杂化。ryanodine 受体的亚单位在整体结构上类似于 IP_3 受体的亚单位（图 11-16a），但大小几乎是 IP_3 受体亚单位的两倍。在 IP_3 受体和 ryanodine 受体内，存在多个可被一系列蛋白激酶磷酸化的位点，而且它们的调制方式可能很复杂。

钙作为第二信使　钙在所有细胞的活动中起着核心的作用。在胞浆膜上拥有钙通道的神经细胞和其他细胞内，钙离子作为电荷携带者调制电活动的搏动或爆发性活动、动作电位的类型和电活动的其他方面。但是，电荷转移可能是钙的许多功能中最单一的（图 11-17）。钙离子通过胞浆膜内流或从细胞内钙库释放可产生如下多种功能：①触发分泌活动；②促进肌肉收缩；③激活蛋白激酶、其他酶和钙依赖性离子通道。细胞内钙的变化可直接由某些神经递质诱导，如那些与 IP_3 的合成有关的神经递质或能够激活 NMDA 受体通道等钙通透性离子通道的其他递质（见第 10 章）。然而，我们也不要忘记，第二信使的改变也可以是**神经活动的直接结果**。钙通过电压依赖性钙通道内流导致**电**信号（电压的改变）转导为**化学**信号。

细胞内的钙信号由钙结合蛋白，例如我们在第 8 章中讨论过的广泛存在的小分子蛋白——**钙调蛋白**（calmodulin）接收和解码。与钙离子的结合导致钙调蛋白构象发生很大的改变，暴露一个疏水区，从而能与一系列的效应蛋白发生作用（图 11-17）。至少存在四种不同类型的钙/钙调蛋白激酶。其中之一是**多功能钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶**（钙/钙调蛋白激酶Ⅱ——见第 8 章），它在突触前终末和突触后树突内的浓度都很高，

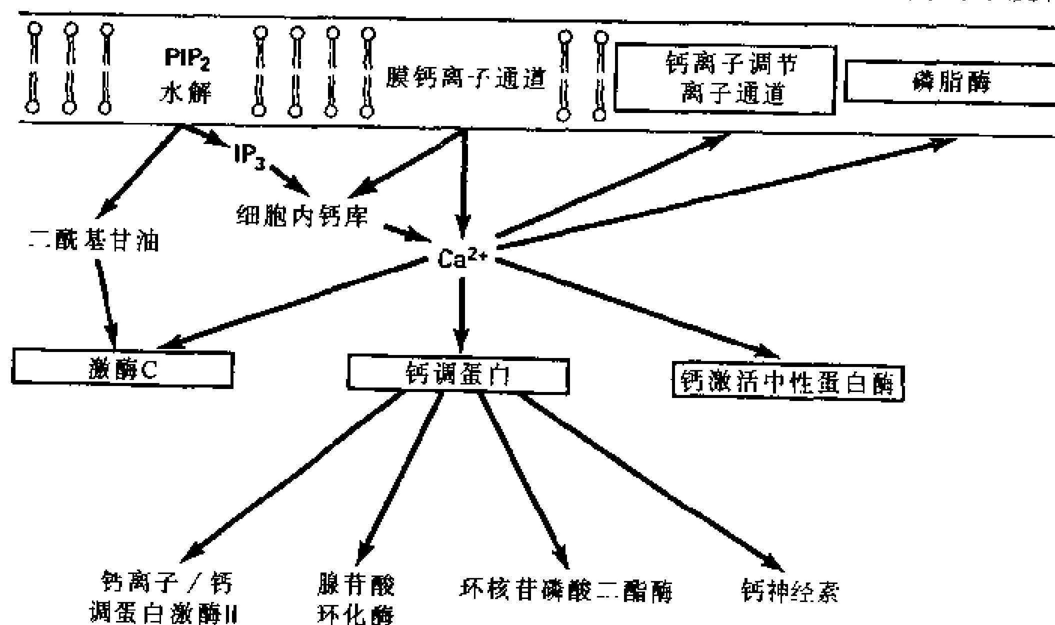


图 11-17　细胞内钙离子的一些作用。钙能够直接与几种膜蛋白和胞浆蛋白发生交互作用并调节它们的特性。胞浆结合蛋白之一是钙调蛋白，它的钙结合形式调节许多酶的活性。改自 Kennedy (1989)。

实际上它占整个脑蛋白的1%。像cAMP依赖性蛋白激酶一样，此酶的作用底物非常广泛，其中的一氧化氮合成酶（图11-11b）和其他蛋白可能参与突触的传递。在第8章我们讲述过，**突触前**终末的钙/钙调蛋白激酶Ⅱ对枪乌贼巨突触的神经递质释放的调制，以及该酶在**突触后**树突的高浓度，使人们推测其可能在受体和/或离子通道的调制方面发生作用。像其他许多激酶一样，这种酶的特征之一是能够进行自身磷酸化。即它以钙/钙调蛋白依赖性方式对自身进行磷酸化。尤其令人感兴趣的是，一旦几个亚单位被磷酸化，则该酶**不依赖于**钙/钙调蛋白也能保持活性（图8-11）。因此，短暂的钙信号可以使此酶长时间处于激活状态，这一发现引出这样一个假设：该酶作为一个“钙开关”起作用，使神经元的特性发生持久的改变。

第二信使系统内的交互作用和共同性　　第二信使系统的差异没有第一信使——即细胞外的信号传递分子——或它们的膜受体的差异大。然而，由于不同的第二信使可以在各种水平发生交互作用，它们的作用也相当地复杂。例如，G蛋白可能参与几种不同的第二信使的合成。此外，一种第二信使可能影响参与另一种信使通路的启动或关闭的酶的活性。仅举几个例子，例如，存在钙/钙调蛋白依赖性cAMP磷酸二酯酶和磷蛋白磷酸酶，而钙既能激活又能抑制腺苷酸环化酶。不过，从这些复杂的表面，还是能发现这些通路的共同特性：大多数第二信使由G蛋白介导的酶促反应产生，并且大多数利用蛋白磷酸化作为它们产生生物效应的最终的共同机制。虽然如此，我们在归纳它们在生理反应中的作用时，必须考虑第二信使系统内部的**交互作用**。在随后的章节中，我们将在特化的神经细胞的转导及神经电活动的机制上详尽地讨论这个主题。

连接酪氨酸激酶的受体

有些受体家族通过我们迄今描述过的途径以外的途径转导它们的信号。**受体酪氨酸激酶**（receptor tyrosine kinase）是一种特化的蛋白激酶，它们对蛋白的磷酸化仅作用于酪氨酸残基上。与我们已经讨论过的其他蛋白激酶相反，受体酪氨酸激酶的活性不受细胞内第二信使分子的调节。而是酶的活性部分位于细胞内的一个催化结构域，这个催化结构域是某些生长因子的膜受体的一部分（图11-18）。换句话说，生长因子受体本身就是酪氨酸激酶，它们与生长因子的结合直接激活酪氨酸激酶。一旦被激活，这些激酶可以磷酸化它们自身以及包括离子通道在内的其他底物。通过这些受体作用的生长因子有**上皮细胞生长因子**（epidermal growth factor，EGF）和**神经生长因子**（NGF）及其相关的**神经营养因子**。在第14章我们将会看到，这些神经营养因子在神经系统发育过程中对神经元的分化起关键性作用。从点突变实验可知，酪氨酸激酶的激活对通过酪氨酸激酶连接的受体发挥作用的生长因子的生物活动是必需的。

其他受体家族

虽然在讨论第二信使时，我们把注意力集中在G蛋白偶联的受体家族上，但是认识到其活动也能影响同样的第二信使通路的其他受体家族很重要。例如，一些生长因子

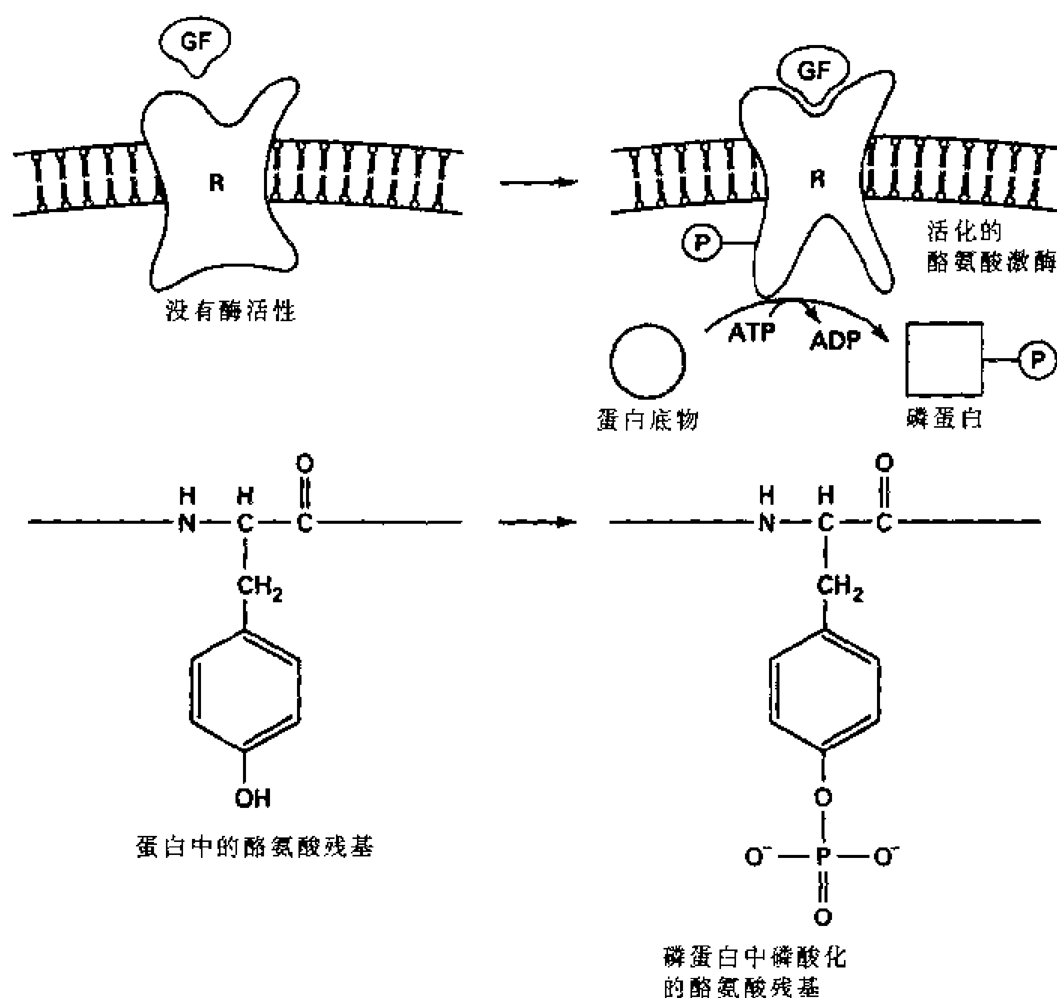


图 11-18 与酪氨酸激酶相连的受体。许多生长因子（GF）的受体包含一个能在酪氨酸残基上催化蛋白质磷酸化的细胞内结构域。只有当该受体结合生长因子时，酪氨酸激酶的活性才能被观察到。

受体在结构上与 G 蛋白没有关联，但是也能够直接激活 IP_3/DAG 通路。另外，一种肽类激素——**心钠素**的受体，含有一个鸟苷酸环化酶的胞浆结构域（图 11-11a）。这可能是一种全新的膜受体的先兆。

我们讨论其他受体不如讨论直接偶联或 G 蛋白偶联家族深入，这并不意味着其他受体不重要。而是它反映了这个领域的广度，并且我们对这两个家族怎样调节神经元的兴奋性知道得也多一些。我们也选择了直接偶联和 G 蛋白偶联受体，作为我们正在开始了解的受体家族的结构和功能之间关系的例子。其他受体家族也已为人所知，我们坚信将来甚至会有更多的受体家族有待发现。

生物效应

靶细胞对特定的细胞外信号应答的特异性存在于哪里呢？自从认识到 cAMP 能在不同种类的细胞中介导不同的生物效应，我们就一直很疑惑。在 cAMP 的特定情况下，一些答案初现端倪。现在已经知道，神经元和其他细胞内含有一种 cAMP 依赖性蛋白

激酶的**锚定蛋白**（anchoring protein，AKAPs），该蛋白与激酶的调节亚单位结合。不同的 AKAPs 有独特的靶结构域，该结构域把 AKAP-激酶复合物固定于邻近特异性底物蛋白的分散的细胞隔室中。因此，不同的细胞或细胞的不同区域对 cAMP 的反应的特异性取决于存在于该细胞的特定的 AKAP。

当认识到 G 蛋白参与一系列范围广泛的效应的产生时，特异性的问题变得更加迫切。虽然我们对特异性仍然没有全面的了解，但是在一些实验中我们还是找到了一些重要的线索。在这些实验中，受体在正常时不含有这些受体的细胞类型中被表达出来。这些受体能偶联到宿主细胞的内源性转导机制上，然后通过激动剂的激活可以产生宿主细胞的特征性生物效应，而不是外源性受体及其配体的生物反应。例如，来源于神经细胞的 5-羟色胺受体可能与离子通道偶联，但当它们在成纤维细胞中表达并被 5-羟色胺激活时，则能够导致恶变。类似地，当 5-羟色胺受体在卵细胞中表达时，5-羟色胺能引起卵细胞对精子的典型效应。这些实验告诉我们，特异性存在于靶细胞和特定的生物效应系统中，细胞使这些系统得以和受体及转导机制交互作用。

小结

细胞外信号必须被靶细胞识别并转导成相应的生物效应。信号识别由偶联于不同转导机制的特异性膜受体完成，神经细胞内的转导机制通常是调节离子通道的活动。在前一章中讨论到的最简单的受体/离子通道偶联系统，由配体结合位点和通道同处于一个单一的蛋白分子或大分子复合物组成。较为复杂的偶联机制包括在膜平面上 G 蛋白与离子通道之间的蛋白-蛋白交互作用。最后，许多离子通道通过可扩散的细胞内第二信使与受体偶联。受体/通道偶联的种类的这种多样性的目的，可能是在神经元对神经递质、激素和感觉刺激的效应方面提供了目前这种广泛性。

第二信使介导的偶联的类型也存在多样性。大量的第二信使系统初看上去似乎彼此没有关联。然而，其中的几种在反应系统的最终作用机制方面有共同点，即通过数种第二信使依赖性蛋白激酶之一在丝氨酸或苏氨酸残基上进行蛋白磷酸化。在第 12 章中我们将会看到，蛋白磷酸化对神经元兴奋性的调制，通常包括对离子通道蛋白本身或一些密切相关的调制成分的直接磷酸化。

12

神经调制：神经细胞电活动的诱导变化的机制

并非所有神经元诞生时都是相同的。甚至相邻的神经细胞可能有不同的电生理特性，从而表现出非常不同的内源性电活动模式。从本书第二篇的讨论可知，这些活动模式的多样性反映了在一系列特定条件下的兴奋的离子通道的全貌。我们现在要讨论的重点是，这些电活动的不同模式并不是固定不变的，而是受到来自突触的或激素的刺激的调制。神经元在动作电位的形状及幅度，动作电位爆发的时程和它们对突触刺激的反应方式上，可能发生持久的改变（图 12-1）。由第 10 章和第 11 章所述的转导机制介导的神经元电特性的这种调制，不仅使神经系统能够根据不断变化的环境调整输出信息，而且也是行为上的许多持久变化的基础。由于神经调制是在不同的时间选择不同的行为模式的基础，因此是神经系统发挥功能的根本前提。

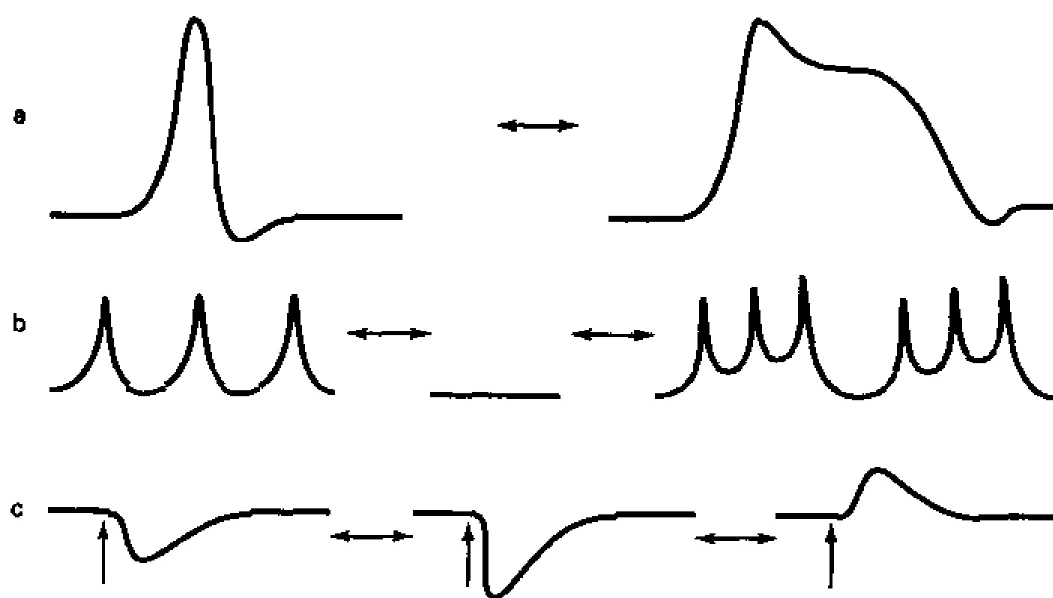


图 12-1 神经元膜特性的调制。神经元膜特性的共同调制变化包括（a）动作电位幅度和/或时程的改变；（b）搏动（左）、静止（中）和爆发（右）之间的内源性放电模式的改变；及（c）突触传入效率的改变。

本章中我们将讨论在生化机制和生理效应方面至少有部分了解的几个神经调制的例子。正如在前面的许多章节一样，这里所讨论的主题也是多样性的一个方面。不同种类

的离子通道在不同的细胞上被调制，而且各种各样的分子机制在调制中起作用。因为还没有一块神经调制方面的罗塞达石板[1]，仍未能对一个单一系统的调制过程的生理意义和分子机制有深入的了解，因此我们选择调制现象的几个例子，以使读者获得神经调制多样性的一点粗浅印象。我们也将会看到，离子通道的直接磷酸化是介导许多神经调制过程的一种机制。

动作电位大小和波形的调制

在第二篇讨论动作电位的离子机制时，我们曾强调动作电位是一种“全或无”的现象。由于动作电位仅仅依赖于钠离子的浓度梯度，因此它的幅度是不变的。虽然这对于乌贼神经元的巨轴突这一特殊例子是基本正确的，但对于大多数神经细胞而言，这一论断就太过于简单化了。我们现在知道，在许多神经元的胞体内，存在参与动作电位的去极化相的钙电流；而且一系列不同的钾电流参与复极化过程并影响动作电位的波形。我们也知道，这些电流许多是可以调制的，从而引起动作电位的大小和波形的改变。这种改变的一个重要的功能意义是调制动作电位传导到突触前终末时触发的递质释放。

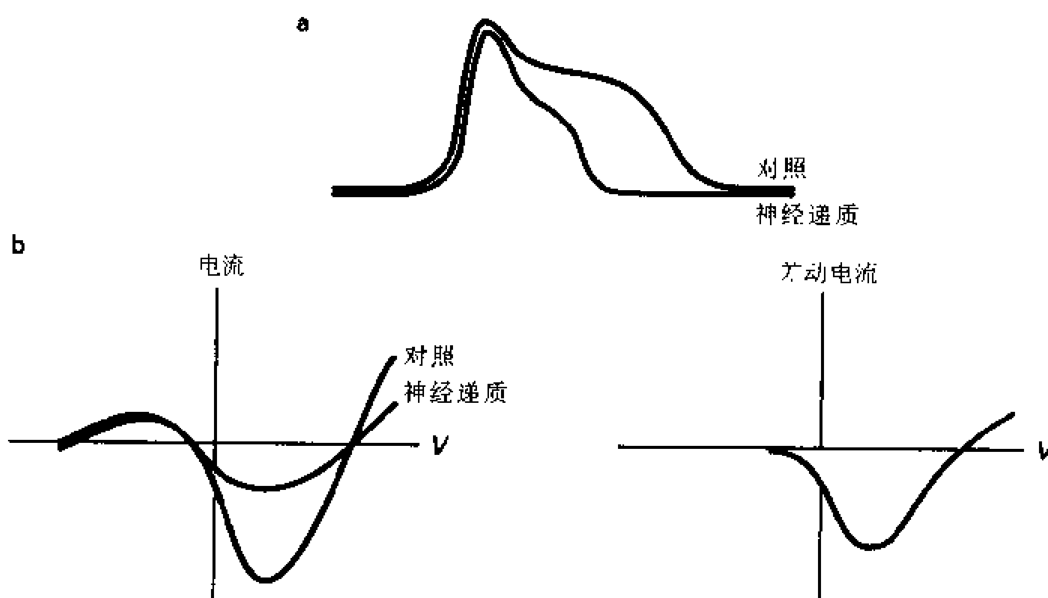


图 12-2 背根神经节神经元的动作电位时程的调制。a：Dunlap 和 Fischbach（1978）首先证实，多种神经递质可以缩短背根神经节神经元动作电位的时程。b：电压钳分析表明，这是由内向电流减少引起的。由神经递质引起的差动电流如右图所示。

背根神经节神经元　动作电位时程的调制的最早的例子之一，是在小鸡的**背根神经节**（dorsal root ganglion，DRG）的神经元中发现的，是感觉信息从外周传入到脊髓的通路的一个中转站。许多神经递质可引起 DRG 神经元的动作电位的波形变窄（图 12-

1）Rosettastone，1799 年在埃及尼罗河河口名为罗塞达的地方发现的一块石板，上面刻有希腊文及埃及象形文字，为推考埃及文字提供了条件。——译者注

2a)。产生这种效应的递质有肽类——脑啡肽和生长抑素，以及5-HT、GABA和去甲肾上腺素。存在两种可能的途径产生动作电位缩窄。一方面，可能是引起锋复极化的钾电流增加；另一方面，可能是递质直接降低了引起锋去极化相的钙或钠电流。电压钳实验有力地支持后面一种解释。如图12-2b所示，多种递质引起电压依赖性电流的降低，据推测这是一种钙电流（与图6-1c相对照）。

那么介导DRG神经元动作电位缩短的分子机制是什么呢？胞内注射GDPβS或用百日咳毒素预处理DRG神经元可以阻断去甲肾上腺素或GABA的作用。此外，应用蛋白激酶C这一二酰基甘油（DAG）激动剂可以降低这些神经元的钙电流，而蛋白激酶C抑制剂则可以阻断递质诱导的锋电位缩短。这些结果提示，G蛋白介导的磷酸酯酶C的激活和伴随的DAG的继发性释放，以及蛋白激酶C的激活，是引起钙电流降低和动作电位缩短的原因。动作电位缩短的生理意义很可能导致DRG神经元末梢递质释放的减少，并降低传入到脊髓的感觉信息量。脑啡肽的例子尤其令人感兴趣。脑啡肽诱发的动作电位时程的缩短，伴随着从DRG神经元释放的痛觉传导路的递质——P物质的耗竭，可能是脑啡肽和其他鸦片激动剂的镇痛作用的部分原因。

心肌细胞　动作电位时相调制了解得最清楚的例子，是β-肾上腺素激动剂诱导的心肌细胞锋电位的延长。我们确实知道，严格地说，心肌细胞并非神经元。然而，它们之间在电信号传递及其调制的机制上有如此之多的相似之处，我们可以将心肌细胞当作名誉的神经元。我们一直在强调神经元与其他细胞的相似之处，但没有比心肌细胞和神经元这两者更加相似的。

我们对心肌细胞的动作电位及其调制的基本机制已经了解得很清楚。心肌细胞的动作电位主要是钙锋电位，并可被去甲肾上腺素和β肾上腺素激动剂显著地延长（图12-3a)。这种延长，以及伴随的一系列其他的生化和电生理改变，导致β肾上腺素刺激引起的多方面效应，包括心肌收缩速率和强度的变化。

就像前面讨论过的DRG神经元的情况一样，或者钙电流或者钾电流的变化可能导致动作电位的延长。电压钳实验表明，锋电位时程延长的离子机制，是引起去极化平台相的钙内流的增加（图12-3b)。单通道分析证实，β肾上腺素能刺激可引起钙通道活动的增强，而钙通道活动的增强引起锋电位增宽。当胞内注射cAMP，或者胞外利用膜通透的cAMP类似物，以及注射cAMP依赖性蛋白激酶的活性催化亚单位，所有这些效应都可被模拟出来（图12-3c)。显然，cAMP依赖性蛋白磷酸化介导了动作电位时程的调制。在本章的稍后部分我们将论述，可磷酸化的调节蛋白实际上是离子通道蛋白本身的一部分的可能性。

我们在本章开始部分谈到的多样性主题，在锋电位形状的调制的头两个例子中表现得很明显。两个例子都涉及到钙电流的变化，但其中一例的钙电流减少，而另一例的钙电流则增加，完全不同的转导机制介导了调制效应。现在当我们将要开始讨论海兔神经系统的例子时，将介绍另一个层面的复杂性，在海兔神经系统中，单一神经元的动作电位的幅度和时程，可以被几种不同的离子电流和/或几种不同的转导机制所调节。

海兔袋细胞神经元　袋细胞神经元是两簇与海兔腹腔神经节有关的同种神经分泌

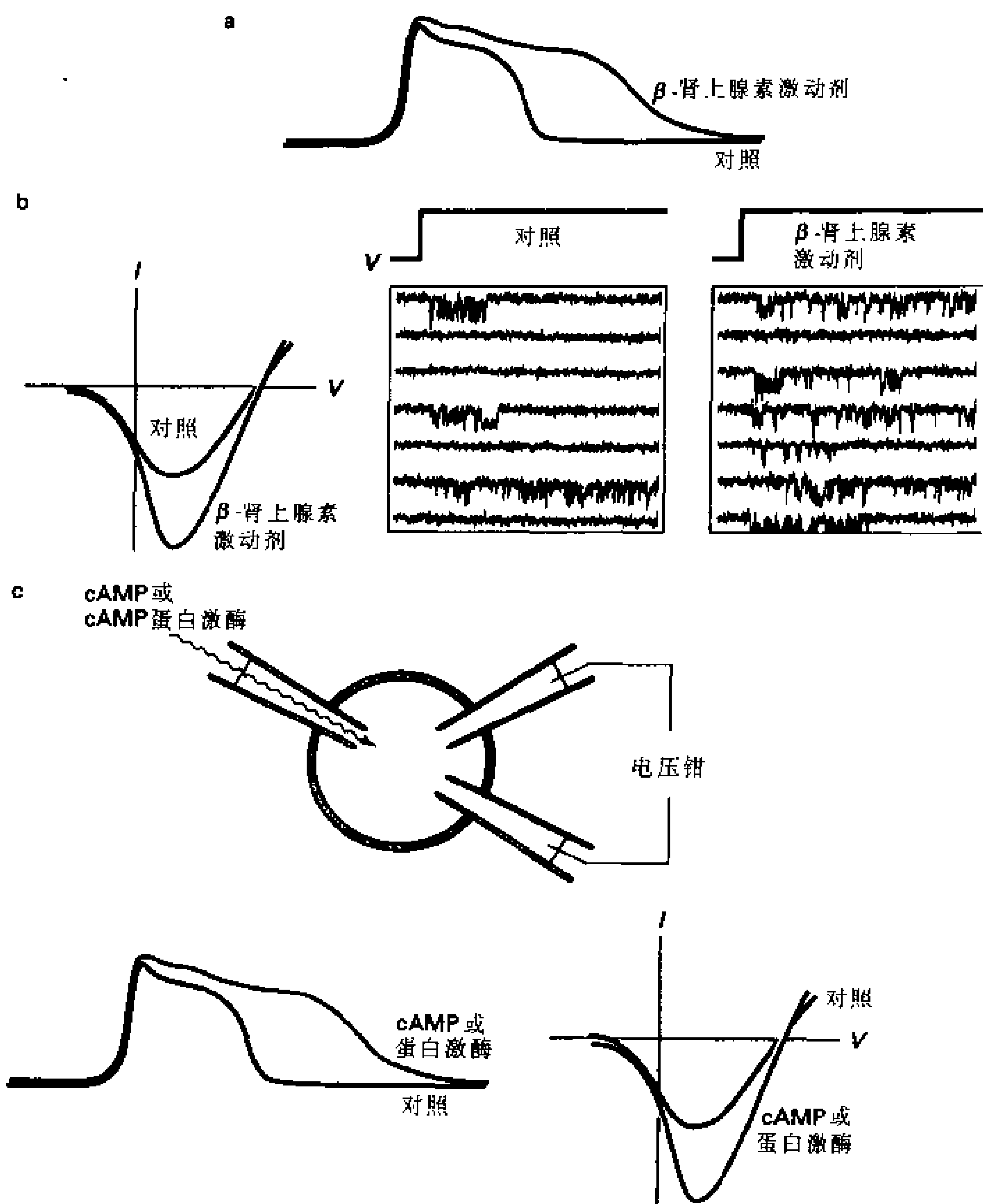


图 12-3 心肌细胞动作电位时程的延长。a：Harald Reuter，Richard Tsien 和 Wolfgang Trautwein 实验室的研究表明，β-肾上腺素能激动剂延长心肌动作电位的时程。b：这是由于电压依赖性的钙通道的激活（右）导致钙离子内流的增加（左）。c：胞内注射 cAMP 或 cAMP 依赖性蛋白激酶可产生同样的变化（见 Tsien，1987）。

神经元（图 12-4）。在第 17 章我们将讨论到，袋细胞神经元合成和分泌触发繁殖所必需的几种神经活性肽。这些肽的分泌是由称为**后发放**（afterdischarge）的长时程放电激发，在后发放中，动作电位的幅度及时程均有所增加（见图 17-10）。我们将首先讨论参与锋电位大小和形状的调制的机制；后发放将在后面关于神经元发放模式的调制中讨论。

由于在一个完整的神经元群内的所有袋细胞神经元通过电突触相互偶联，所以用电压钳来检测他们的电生理特性是不可能的。但在分离后的原代细胞培养中，这些神经元

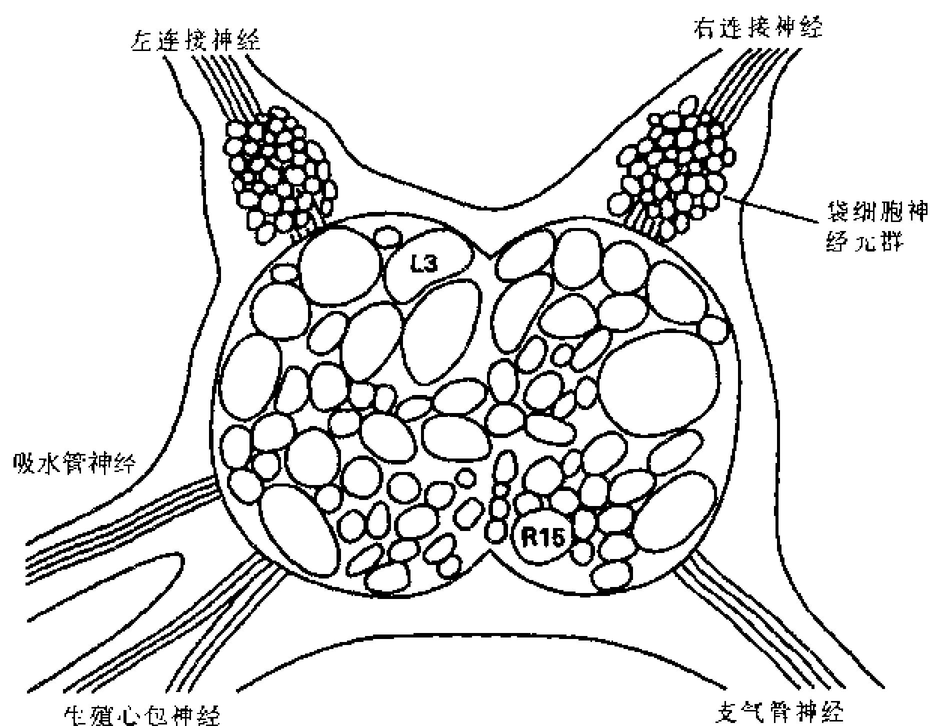


图 12-4 海兔腹神经节神经元及神经元群的定位。引自 Eric Kandel 及其同事根据海兔腹腔神经节的背侧面绘制的画图（Kandel，1976）。海兔袋细胞神经元群和在本章及其他章节描述的几个确定的神经元的胞体以红色表示。

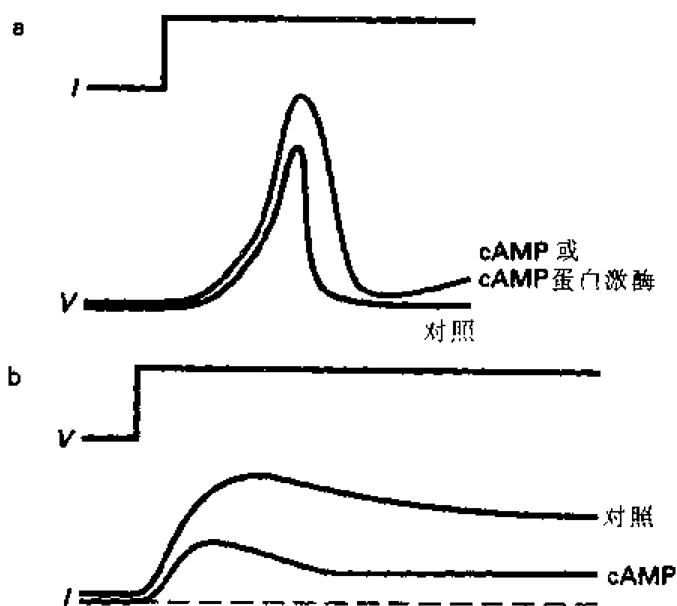


图 12-5 袋细胞神经元动作电位幅度和时程的变化。a：当胞内注射 cAMP 类似物或 cAMP 依赖性蛋白激酶的催化亚单位时，由去极化电流脉冲激发的动作电位的幅度和时程发生改变。b：锋电位的调制伴随着延迟整流钾电流动力学和幅度的改变（见 Strong and Kaczmarek，1987）。

仍保留了许多在体细胞的形态学特性和电特性，所以可利用分离细胞来观察它们的神经调制现象。虽然，这种分离细胞通常不表现出自发的电活动，但在去极化电流脉冲的作用下，它们也可被诱导发放动作电位。当增加胞内 cAMP 水平时，动作电位的幅度及时程均得以延长（图 12-5a）。用袋细胞神经元自身合成和分泌的一种肽类递质（见第 17 章），或具有膜通透性的 cAMP 类似物处理，也能产生这样的效应。cAMP 对动作电位的调制——据推测是作为肽类递质的细胞内第二信使起作用，可被 cAMP 依赖性蛋白激酶的催化亚单位的胞内注射模拟（图 2-5a），并可被蛋白激酶抑制剂阻断。

但是，在袋细胞神经元中，受 cAMP 依赖性蛋白磷酸化的调制而引起动作电位这些变化的离子流是什么呢？钙电流和钾电流都是优先的候选者，但基于我们到目前为止讨论过的例子，并不能推测出答案。电压钳实验已经证明，在本例的答案是钾离子（图 12-5b)。在袋细胞神经元内，参与锋电位复极化的延迟整流钾电流有几种成分，它们的减少导致了 cAMP 处理后的动作电位的显著延长。

在袋细胞神经元内，cAMP 并不是调制动作电位的惟一第二信使。用蛋白激酶 C 的佛波醇酯激动剂处理分离的神经元可引起动作电位的幅度增加，但在时程上很少甚至没有改变（图 12-6a)。这一效应可通过胞内直接注射蛋白激酶 C 模拟（图 12-6a）和被蛋白激酶 C 抑制剂阻断。与 cAMP 的作用不同，佛波醇酯并不改变袋细胞神经元的电压依赖性钾电流。相反，钙电流的增加是导致动作电位幅度上升的原因，钙电流在动作电位上升期起主要作用（图 12-6b)。当用单通道分析检查这种变化的微观机制时，可发

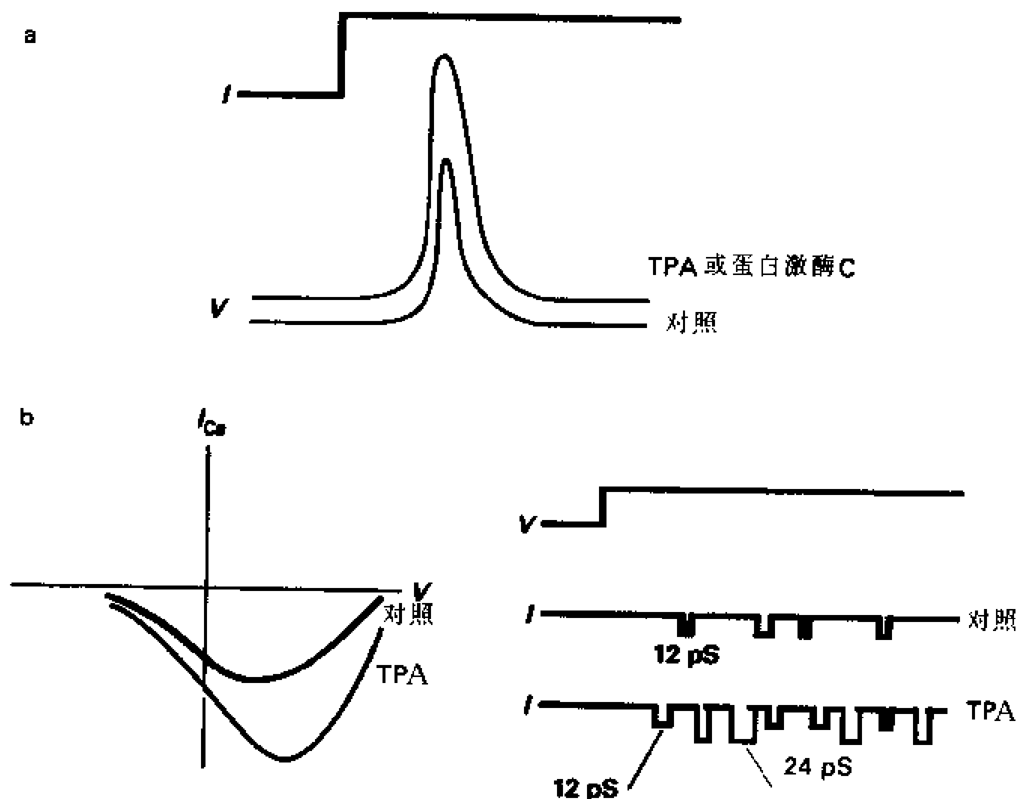


图 12-6 蛋白激酶 C 对袋细胞神经元动作电位的调制。a：注射蛋白激酶 C 或用佛波醇酯（TPA）处理可增加动作电位的幅度，但不影响其时程。b：TPA 增加了电压依赖性钙电流（左）。这是由于加入了一种新的钙通道，而这种钙通道在缺乏 TPA 时观察不到（右）。

现由蛋白激酶 C 激动剂引起的整个细胞钙电流的增加涉及一种新的钙通道。而在对照组神经元中，钙离子流是被一组单通道电导为 12 pS 的电压依赖性钙离子通道所运载。当利用佛波醇酯或二酰基甘油处理后，上述通道仍然存在。此外，还出现了一组在对照组未曾出现过的电导为 24 pS 的钙通道（图 12-6b）。虽然不能完全排除小电导通道转变成大电导通道的可能性，但似乎不大可能，因为在对照组和佛波醇酯处理的袋细胞神经元中，观察到小电导通道的频率是大致相同的。而且这两种通道在神经元膜表面有不同的空间分布。利用 fura-2 荧光素技术检测胞内钙的分布和水平（见第 8 章）的图像揭示，蛋白激酶 C 激活后出现新的钙内流位点（图 12-7a）。一个令人感兴趣的可能性是，蛋白激酶 C 可能触发 24 pS 的钙通道从细胞内的囊泡上补充到胞浆膜上（图 12-7b）。

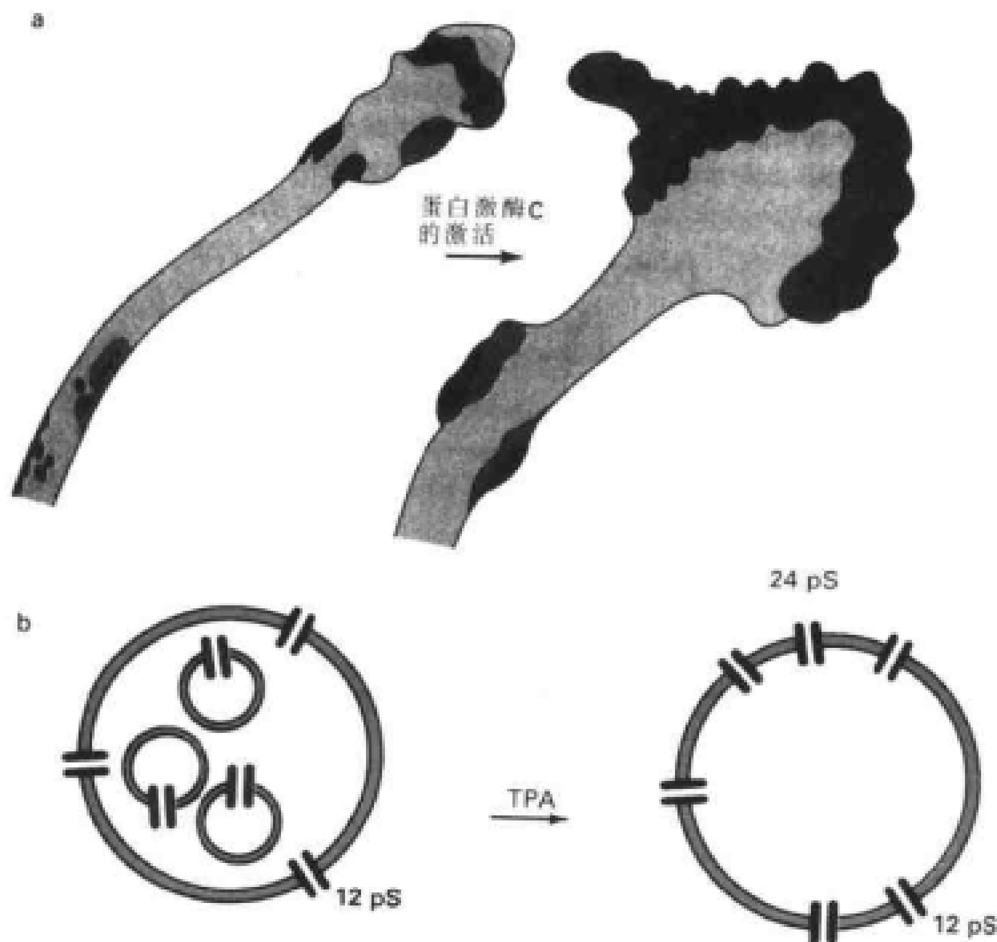


图 12-7 经 TPA 处理后，分离的袋细胞神经元末梢上出现新的钙内流位点。a：fura-2 荧光素预载的细胞末梢的荧光图像揭示，TPA 等蛋白激酶 C 激动剂使末梢的大小迅速增加。在一串动作电位的过程中，新的钙内流位点在新扩张的末梢上被发现（见 Knox et al., 1992）。b：图示从细胞内囊泡上补充来的新的钙通道的可能性（见 DeRiemer et al., 1985；Strong et al., 1987）。

动作电位大小和形状的调制：是否存在规律性 我们可以进一步举出有关神经元及其他可兴奋的细胞的动作电位的幅度和时程的调制的其他例子，但上述实验对于我们想要探索的信息应该足够了。第一条信息是，动作电位的调制是普遍存在的，可见于许多不同种类的神经和肌肉细胞。深思一下，这并不令人惊奇。动作电位的这些改变导致流

入胞内的钙的量发生变化，而我们已经了解到，钙对细胞的许多功能——包括分泌功能，是极端重要的。第二条信息是，不同的细胞选择不同的机制调制动作电位。cAMP、DAG 及其他第二信使系统可能参与调制，在单一细胞内，它们有时互相协同，而有时则互相拮抗。最后，动作电位的改变或者受钙通道的调制所致，或者受几种不同的钾通道的调制所致，常常是在单一细胞中有不只一种通道被调制。许多系统的一个共同特征，似乎是蛋白磷酸化参与了调制。我们将会看到，调制机制的这种多样性也是神经元冲动发放模式调制的特点。

神经元自发放电的调制

对神经元内在电活动的研究，可通过将其与激素或来自其他细胞的突触传入相隔离来进行。可以通过物理性方法从神经系统中取出该细胞，然后放在组织培养皿中单独培养；或利用药理学方法阻断细胞间的交互作用。在这种情况下，很显然有些神经元不能呈现自发的电活动，而另外一些则以大致规则的时间间隔发放动作电位（见图 3-11）。我们将会看到，神经系统通过生物化学调制机制开启、关闭或者改变这些自发电活动的模式。

海兔袋细胞神经元　我们在前面章节讨论过的海兔袋细胞神经元，不仅可以发生动作电位大小及形状的调制，而且也提供了神经元冲动发放模式发生改变的研究得最清楚的例子之一。cAMP 不仅可以影响动作电位，而且对这些神经元电活动中后发放的产生也扮演了关键的角色。在放电的启动阶段，袋细胞神经元内的 cAMP 水平升高。促使胞内 cAMP 水平上升的处理因素可触发和延长放电。而且 cAMP 可诱导电压依赖性的内向电流，从而在细胞的稳态电流-电压曲线中表现为一段负斜率的阻抗。而这种负阻抗正是具备内源性重复发放的细胞的特点（见图 12-8b 的例子）。虽然酪氨酸激酶和磷酸化酶对非选择性阳离子通道的调节似乎引起长时程去极化，但是仍不清楚在袋细胞神经元中是前面讨论过的哪种离子流的调控在后发放的产生和维持中起关键作用。令人感兴趣的是，袋细胞神经元在后发放结束后，进入可长达 18～24 小时的长不应期阶段（见第 17 章）。在这个不应期内，不管是电刺激还是 cAMP 水平升高，都不能产生进一步的长时程后发放。已有一些证据表明，钙离子在这段抑制期的发生中可能有重要作用，但它的作用机制仍不清楚。然而已经清楚的是，多种不同调节机制的复杂的交互作用参与了袋细胞神经元的内源性冲动发放模式的调制。

海兔 R15 神经元　在神经系统内广泛存在着爆发性活动，这种爆发是被称为爆发间期的周期性超极化分隔的动作电位群。我们曾在第 3 章提到，爆发用于驱动节律性行为，以及增加肽类激素的分泌效率。虽然在有些情况下，爆发性活动是多神经元网络的自然特性（见第 17 章），但是某些神经元在缺乏突触或激素传入时也能产生内源性的爆发。内源性爆发发生器原型是海兔 R15 神经元（见图 3-11c 和图 12-4）。R15 神经元的活动受突触刺激或许多不同的激素或神经递质的长期的调制。最能说明这一点的事实是，尽管 R15 神经元是一个内源性爆发发生器，但是在动物体内却因为受到强烈的突触抑制而很少发生爆发。

我们将要讨论了解得很清楚的爆发活动调制的例子，即 5-HT 对 R15 神经元活动的调节。5-HT 通过复杂的方式改变 R15 神经元的活动（图 12-8a）。5-HT 作用后，可观察到爆发间期超极化的幅度和时程增加，有时幅度和时程的增加过于明显，以致爆发被完全抑制。同时，爆发中的动作电位发放的频率有所增加。电压钳分析揭示，离子机制参与了这些变化（图 12-8b）。5-HT 引起内向整流钾电流的增加和在稳态电压-电流曲线中产生负斜率段的钙电流的增加。也许人们会认为，钙电流是内向去极化电流，而钾电流是外向超极化电流，两种反向电流同时增加可能会简单地互相抵消掉。但是请注意，两种电流都是电压依赖性电流，两者被激发的电压范围是不同的（图 12-8b）。内向整流钾通道在爆发间期超极化的过程中被激活，因而 5-HT 对它的调制使爆发间期更加延长。相反，钙通道只有在更高的去极化电压下才被激活，因此，5-HT 促使钙的增加驱动了更加去极化，从而使爆发期内的锋电位的频率增加。这两种离子电流一致性变化的净效应是产生更强的爆发，这种爆发调制 R-15 神经元的肽的释放。这种肽参与海兔的水平衡的调节，因而 R15 神经元爆发性冲动的调制对渗透压的调节是必需的。

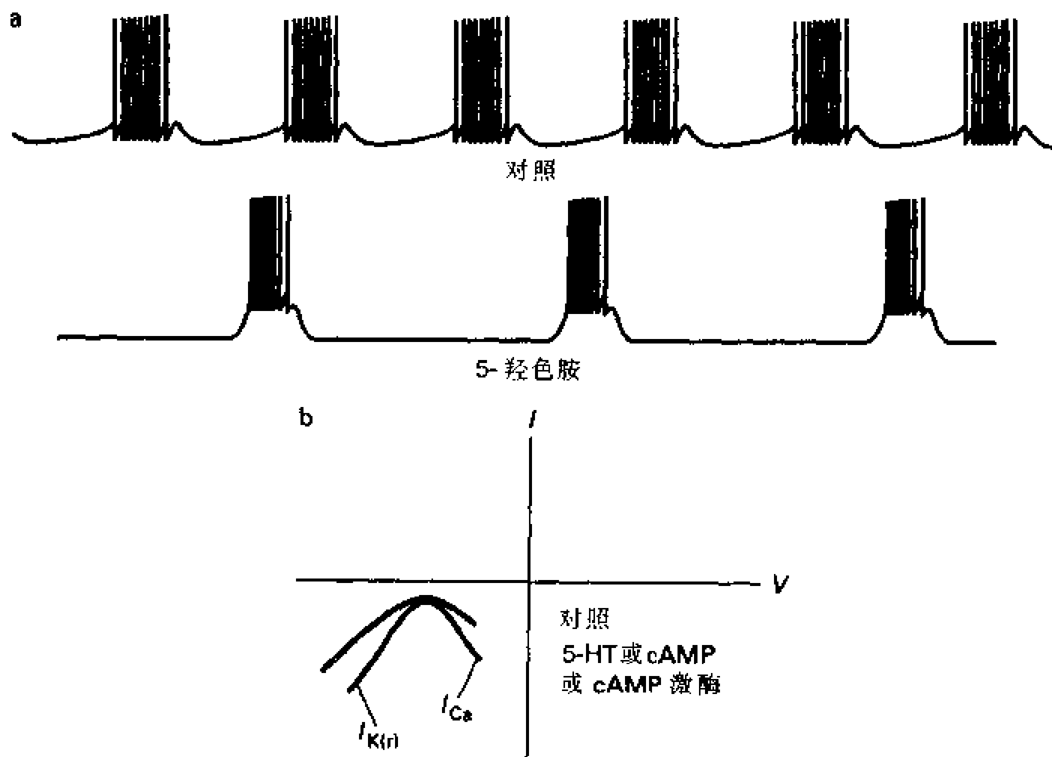


图 12-8　5-HT 调节海兔 R15 神经元的内源性爆发活动。a：5-HT 引起 R15 神经元爆发间期超极化幅度和时程的增加以及爆发期内的动作电位频率增加。b：这种变化由内向整流钾电流（$I_{K(r)}$）和钙电流（I_{Ca}）这两种电压依赖性电流引起（见 Levitan and Levitan，1988）。

5-HT 的这些作用都是由 cAMP 和 cAMP 依赖性蛋白磷酸化介导的。袋细胞神经元在后发放时释放的神经肽——产卵激素（ELH，见图 7-6），也是通过 cAMP 增加 R15 神经元内的相同的电流。因此两种不同的第一信使——5-HT 和 ELH，通过同一种第二信使 cAMP 对两种不同的离子通道产生**扩散**（divergence）的作用（图 12-9a）。不仅如此，钙离子也调制同样这两种离子通道的活性，而 cGMP 调节钙通道（而不是钾通

道)。换言之，几种不同的第二信使系统也可以对同一种离子通道产生**汇聚**的作用（图12-9b)。在 R15 神经元和袋细胞神经元的这些发现，强调了了解不同调制系统如何交互作用，是全面描述神经元发放模式的调节的基础。

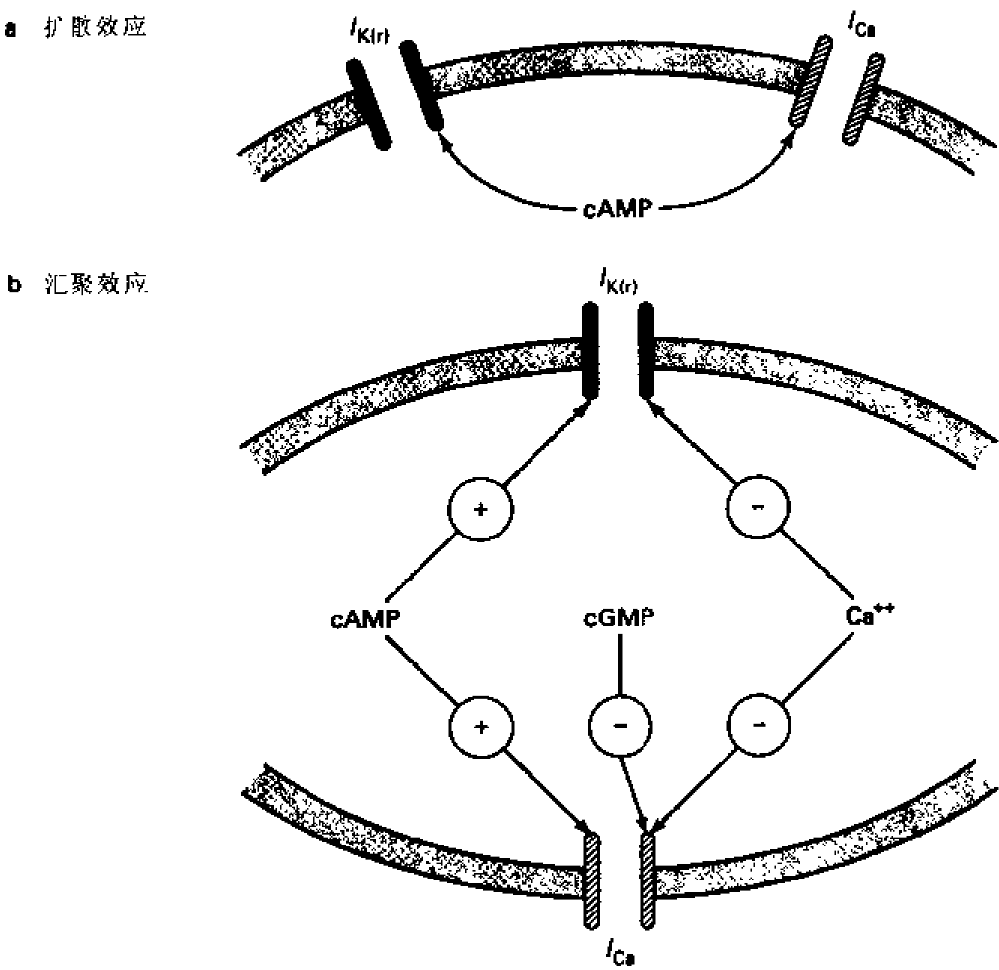


图 12-9 第二信使作用的扩散和汇聚效应。a：cAMP 对 R15 神经元中至少两种不同的离子通道有扩散的作用。b：几种第二信使可能对同一种离子通道产生汇聚作用。+号和 - 号分别代表激活和抑制。

突触效能的调制

目前普遍认为，化学**突触效能**（synaptie efficacy）的调控是许多重要的行为现象——包括学习和记忆的基础。虽然电突触的调制也很重要，但对它的研究却不是很充分，我们仅在本章末尾部分加以简单的介绍。离子通道特性的变化在不改变动作电位幅度和时程，或自发的神经元活动的情况下，可改变突触的效能。我们将在第 18 章有关行为的内容讨论这一问题，在这里我们仅限于简要地描述在细胞水平被了解得比较清楚的几个例子，但其行为意义尚待研究。

牛蛙和大鼠的突触效能的调制　递质对神经元兴奋性的精细调节已在至少两类脊椎动物的神经元——牛蛙交感神经节大 B 细胞和大鼠海马的锥体细胞中作过研究。在这两种细胞中，神经递质都是通过抑制在静息电位时没有活性的一种电压依赖性钾电流而改变神经元的兴奋性。在交感神经节神经元内，一种被称为 M 电流（I_M）的钾电流可被多种神经递质所抑制，包括 P 物质、黄体生成素释放激素（LHRH）和毒蕈碱型胆碱能激动剂。事实上，正是 LHRH 对 M 电流的抑制引发我们在第 9 章讨论过的晚慢兴奋性突触后电位（图 9-12）。因为 M 电流在超极化电位时并不十分活跃，所以应用这些激动剂之一对细胞静息膜电位仅有微小的影响。然而，由于 M 电流不用对抗去极化电位，因此对去极化刺激，例如兴奋性突触电位等的反应明显增强（图 12-10a）。

类似的现象亦可在海马锥体细胞中观察到，在海马细胞内，去甲肾上腺素阻断了一种钾电流，可能是电压和钙依赖性的钾电流，这种钾电流引起了在动作电位之后出现的后超极化（AHP）。因为这种电流（I_{AHP}）在静息电位时未被激活，所以去甲肾上腺素对细胞的静息电位仅有轻微的作用或根本没有作用。但在去甲肾上腺素存在时，去极化刺激对产生动作电位更加有效（图 12-10b），因为正常出现于动作电位后并减弱兴奋性反应的后超极化已被抑制。

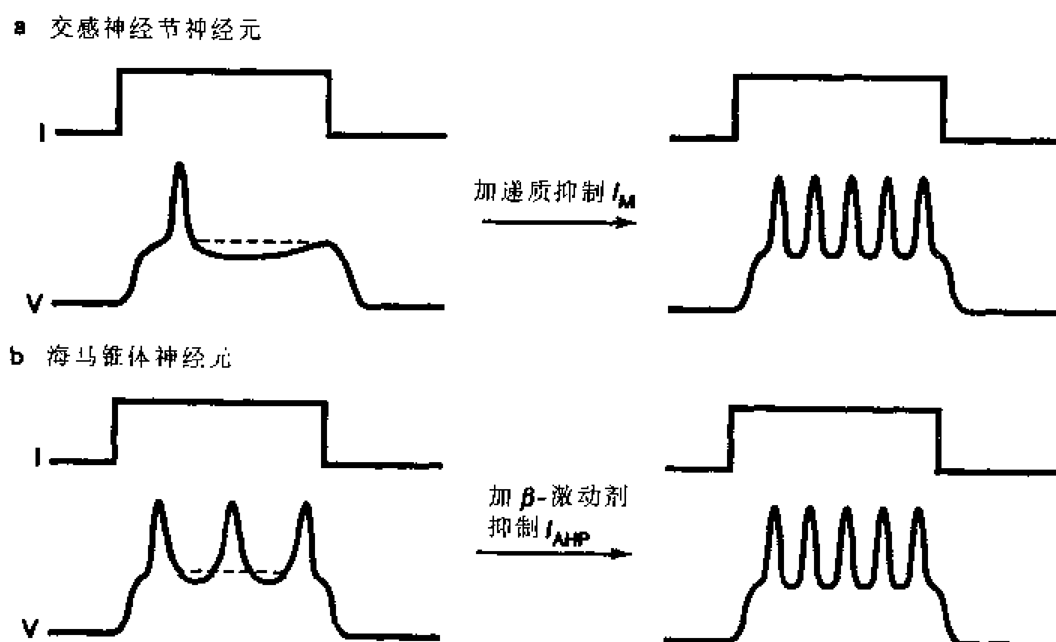


图 12-10　脊椎动物神经元对刺激的反应的调控。a：在牛蛙交感神经节神经元的实验中，加入阻断 M 型钾电流（I_M）的一种递质改变了神经元对去极化刺激的反应。b：类似地，去甲肾上腺素调控大鼠海马的锥体神经元对去极化刺激的反应。I_{AHP}是指引起这些神经元的锋电位后超极化的电流（见 Jones and Adams，1987）。

这些例子足以说明，一种递质的作用可能被另一种递质的作用明显地调制。虽然单一递质对静息膜电位的影响可能很小，但当它与其他突触或激素传入的刺激相偶联，它对神经元的兴奋性的影响可能会很明显。

离子通道的磷酸化和去磷酸化：神经调制的一种普遍机制

前面讨论的许多调制现象都是通过蛋白激酶和磷蛋白磷酸酶的作用而出现的。那么有关被蛋白激酶磷酸化的蛋白质的成分的问题立即就会提出来。通过对一些因酶分子自身的直接磷酸化而发生活性改变的酶的类推，离子通道是蛋白激酶和磷酸酶的靶子，以及离子通道蛋白的直接磷酸化改变了它们的功能特性似乎是可能的。然而前面描述过的实验没有说明这个问题。这些实验包括将一种激酶（或激酶抑制剂）注入细胞，然后检测膜的特性。这些实验清楚证明，磷酸化对于调制效应是必要和充分的。但是也可以作这样的猜想，即磷酸化的靶子是某些非通道膜蛋白，或甚至是胞浆蛋白，它们的磷酸化引发一系列反应，最终导致对离子通道的调制，而离子通道蛋白本身并没有磷酸化。

这个问题已被许多离子通道蛋白是蛋白激酶和磷酸酶的底物的发现令人信服地解答。虽然毫无疑问其他磷酸化的蛋白质可能交互作用和影响离子通道的活性，但通道的磷酸化和去磷酸化能调制通道功能。将生物化学和分子生物学与生理学测定相结合的几种不同的实验方法，已经得出了这个结论。下面我们将逐一介绍这些方法，来描述离子通道磷酸化的普遍性和多样性效应。

在分离膜片内磷酸化对通道活性的调制　　可用于探索这一问题的一个实验技术是在分离膜片内检测通道调制。正如在第4章详细描述的，膜片钳记录方法之一是所谓的内面向外式膜片钳。当采用内面向外式钳制时，在前的胞浆面就暴露在灌流液中（图4-2）。如果认为正在研究的离子通道可能被磷酸化调控，只要在观察通道活性时，简单地加入蛋白激酶以及磷酸化所必需的镁离子和ATP即可（图12-11a）。这种方法首先应用于软体动物的两种通道——海兔感觉神经元上对5-HT敏感（S）的钾通道（图12-11b）和花园蜗牛Helix的神经元上的钙依赖性钾通道（图12-11c）。在两种情况下，cAMP依赖性蛋白激酶催化亚单位都调制通道的活性，如同前面向细胞内注入蛋白激酶的实验中猜想的一样。请注意，这两种通道可被同一蛋白激酶向不同的方向调制，这与全细胞实验观察到的多样性是一致的。而且，蛋白激酶诱导功能性S通道数量（N_f）的减少，但不改变正在发挥功能的那些通道的开放概率（P_o）。与此相反，对钙依赖性钾通道，正是开放概率被蛋白激酶增加，而功能性通道的数量不变。在许多其他的离子通道上也已经进行了这类实验，都表明磷酸化底物不可能是胞浆蛋白，而肯定是一些通道调节成分，当膜片被从细胞分离时，这些成分与膜片一起被分离。这些成分可能是离子通道本身，但也可能是一些细胞骨架成分或其他成分，扫描电子显微镜照片显示，这些成分与分离的膜片是相连的。

磷酸化调制重构离子通道的活性　　对分离膜片实验的一个补充方法是检测重构到人工磷酸脂质双层膜的单离子通道活性的调制。这类似于我们在第10章讨论过的在脂质小体上重构乙酰胆碱依赖性离子流（图10-9），但是设计的实验条件要能观察到单个离子通道的开关状态。其中的一种方法就是从要研究的细胞中取出胞浆膜囊泡，然后将它融合到镶嵌在一个小孔内的双层膜上，而小孔则位于一个分隔两种水溶液的隔离物中

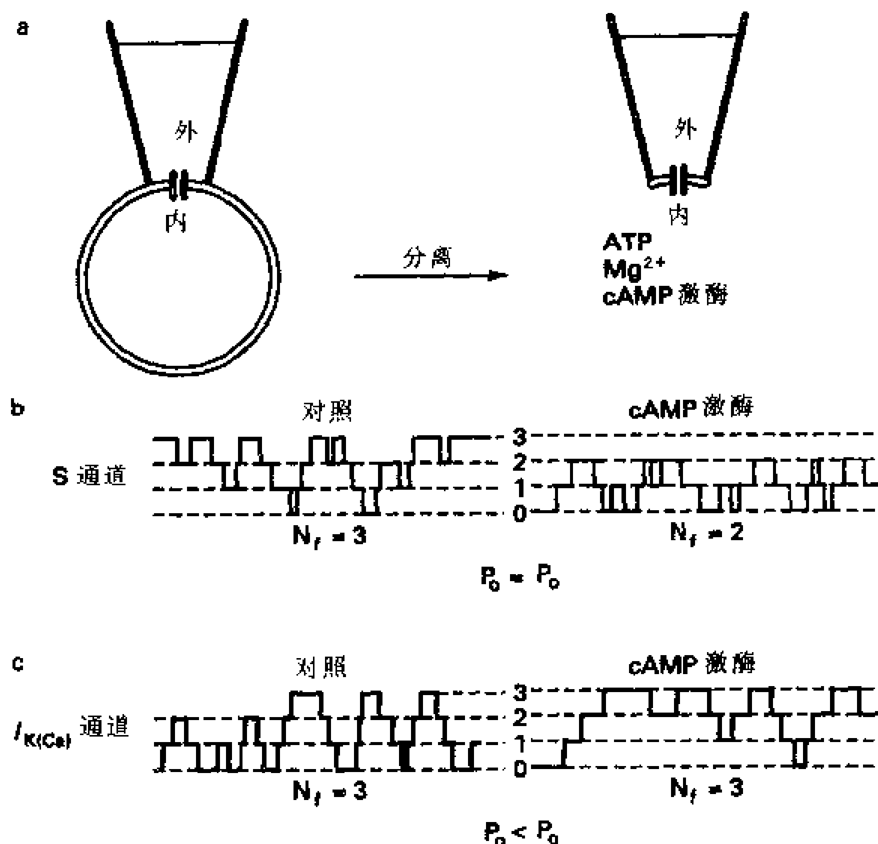


图 12-11 在分离膜片内、磷酸化调制离子通道的活性。a：检测蛋白激酶对通道活性影响的实验流程。b：Steven Siegelbaum 和 Eric Kandel 发现，cAMP 依赖性蛋白激酶改变了海兔感觉神经元分离膜片上的功能性 S 型钾通道的数量。c：这种激酶也能增加 Helix 神经元上的钙依赖性钾通道（$I_{K(Ca)}$）的开放概率。这些发现由 Levitan 综述（1994）。

(图 12-12a)。当一个囊泡融合时，它把膜蛋白插入脂质双层膜内，而如果在这些蛋白中有一个离子通道，就可能通过相对简单的电学方法检测到单通道电流。图 12-12b 描述了从蜗牛（Helix）神经元中提取出来并融合到双层脂膜上的一种钙依赖性钾通道被 cAMP 依赖性蛋白激酶调制的情况。这种重构实验得出了一些基本结论，即至少对一些离子通道来说，磷酸化位点或者是离子通道本身的一部分、或者是一些调节成分的一部分，这些调节成分与离子通道相连得如此紧密，以致一起在双层膜内漂浮。

磷酸化调制纯化的离子通道的活性　通过检测纯化后再重构到双层膜上的离子通道的活性，这种方法可以发展为更加精密的方法。其中一个例子是来自骨骼肌的电压依赖性钙通道，首先根据它与钙通道调质双氢吡啶结合的能力纯化骨骼肌上的一种电压依赖性钙通道。这种钙通道复合物由许多亚单位组成（见第 6 章），至少其中的两个亚单位是 cAMP 依赖性蛋白激酶的底物。钙通道的活性可用这些纯化亚单位在人工双层脂膜上重构。如果在重构前预先在试管内将这些亚单位磷酸化，则通道的门控性会非常不同（图 12-12c）。

这种方法在电鳐烟碱型乙酰胆碱受体的研究上应用得最广泛。电鳐的电板膜上包含

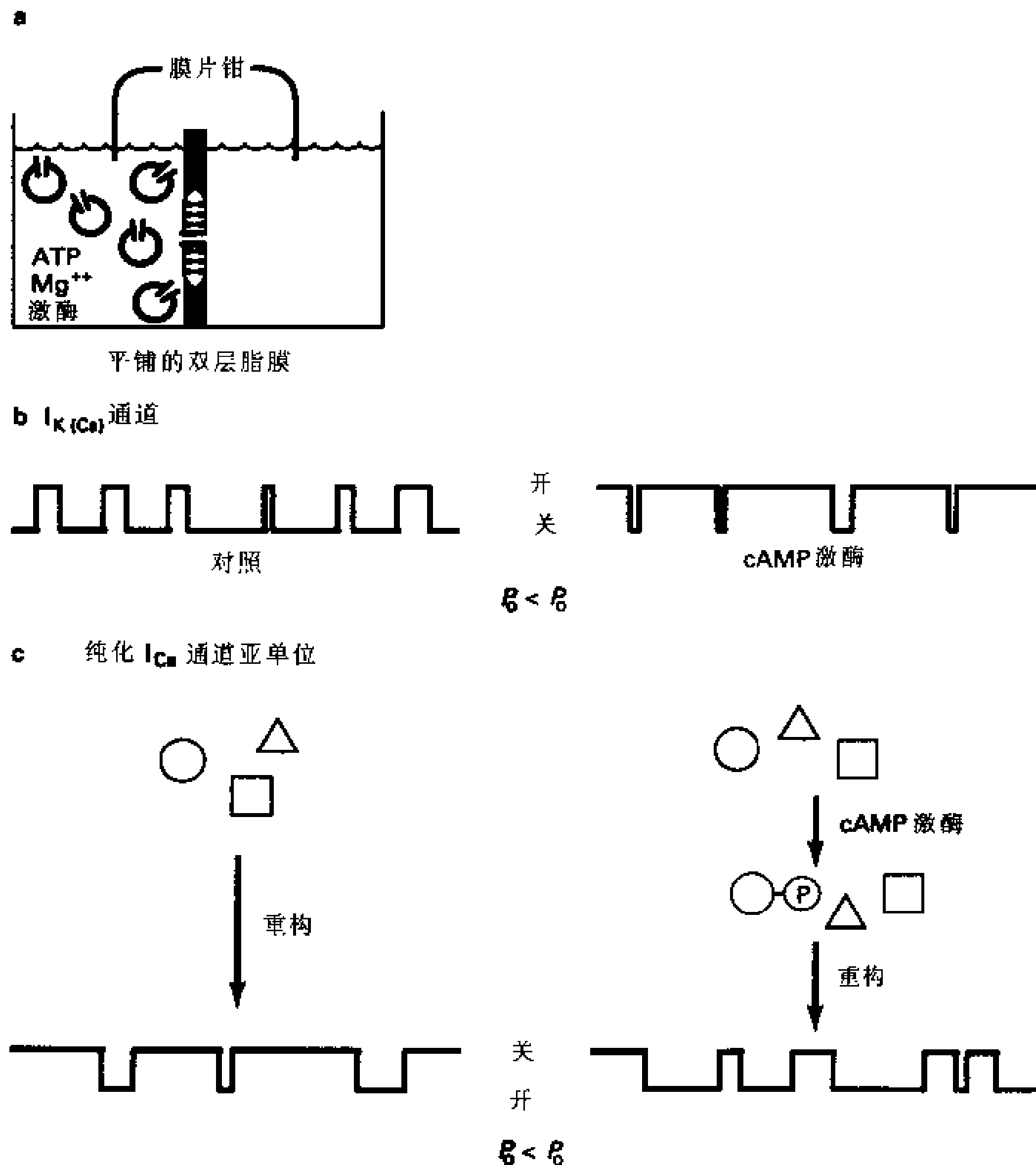


图 12-12 磷酸化调制重构的离子通道的活性。a：离子通道重构方式。b：cAMP 依赖性蛋白激酶增加双层脂膜上的来自 Helix 神经元的钙依赖性钾通道的活性。c：磷酸化调制纯化的重构钙通道（由 Levitan 总结，1994）。

有蛋白激酶活性——包括 cAMP 依赖性激酶、蛋白激酶 C 和酪氨酸激酶，所有这些激酶均可磷酸化烟碱型乙酰胆碱受体。如图 12-13a 所示，这三种激酶对烟碱型受体的各个亚单位磷酸化的方式不同。每个激酶磷酸化的特异性位点已经通过检测各个亚单位的基本氨基酸序列得以明确，并由蛋白序列分析直接证实。

那么不同激酶引起烟碱型受体的磷酸化的功能意义是什么呢？通过利用激酶的催化亚单位磷酸化电鳐的突触后膜，然后纯化被磷酸化的烟碱型受体并把它重构到磷脂囊泡（脂质小体）内，已确定 cAMP 依赖性蛋白激酶的作用。应用第 10 章描述的快流技术（图 10-9），可检测从脂质小体外流的乙酰胆碱依赖性离子流。这些实验揭示，虽然 cAMP 依赖性蛋白磷酸化不改变离子流的初始速率，但却可明显增加激动剂诱导的受体

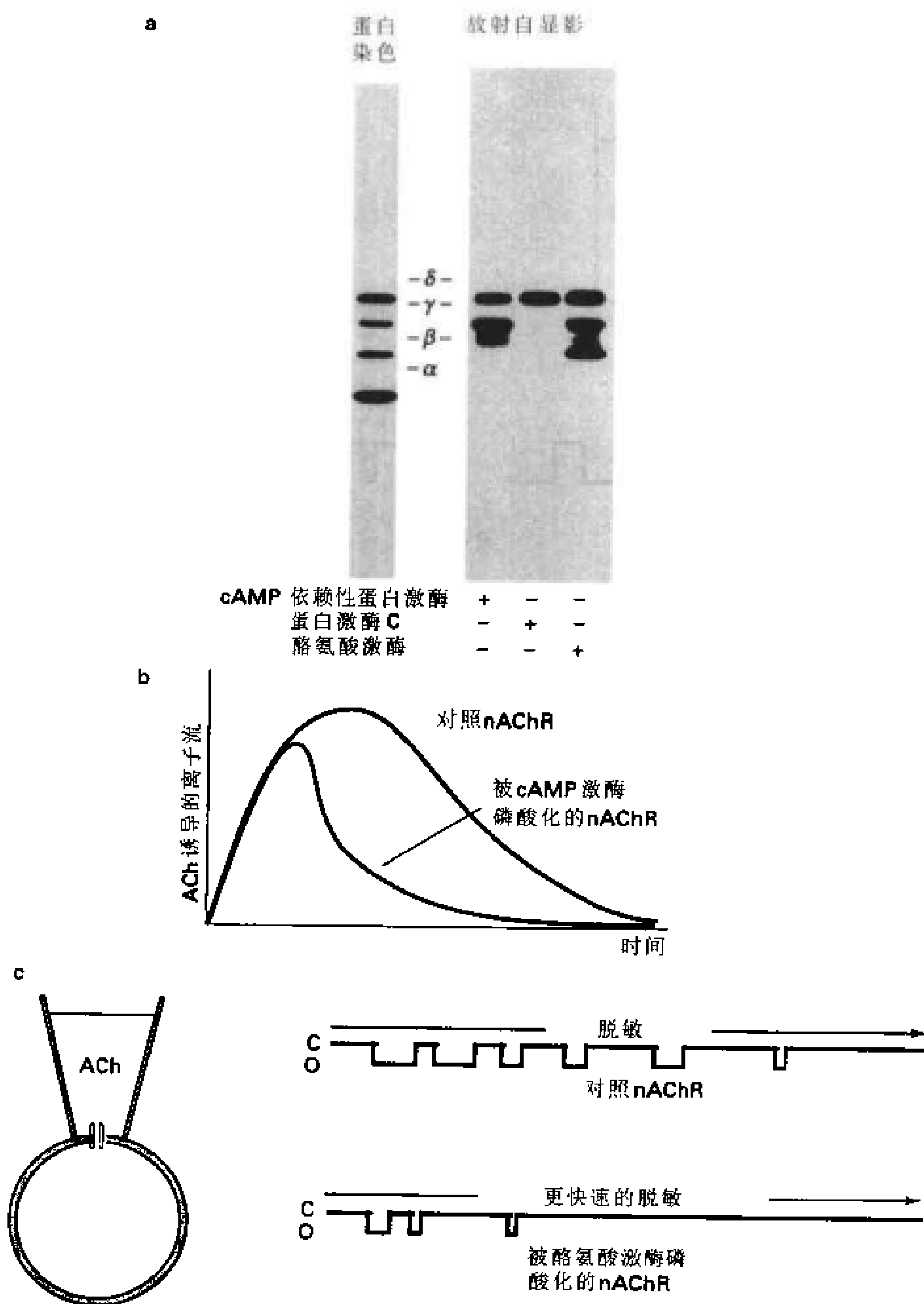


图 12-13 蛋白磷酸化调节电鳐的烟碱型乙酰胆碱受体/通道的脱敏。a：聚丙烯酰胺凝胶的放射自显影图显示，由不同的蛋白激酶引起的纯化烟碱型受体磷酸化的方式（Richard Huganir 慨赠）。b：Richard Huganir 和 Paul Greengard 的研究（Huganir and Miles 综述，1989）证明，cAMP 依赖性蛋白激酶引起的烟碱型受体（nAChR）的磷酸化不改变离子转运的初始速率，但确实增加了脱敏的速率。c：在单通道水平也观察到脱敏现象，这种脱敏被酪氨酸磷酸化所增强（见 Hopfield et al.，1988）。

脱敏（图 12-13b）。既然已知这种激酶的磷酸化位点在 γ 和 δ 亚单位的细胞内环上，因此这些区域肯定参与了受体的脱敏过程。

由酪氨酸激酶引起的磷酸化作用也影响受体的脱敏。将纯化的烟碱型受体重组到脂质小体上，对脂质小体膜的膜片记录揭示当乙酰胆碱存在于膜片电极时的单通道的开放和关闭（这种“脂质小体”记录方式与细胞钳技术相似）。结果显示，即使在没有任何磷酸化的情况下，也能观察到激动剂依赖性的受体脱敏（图 12-13c）。但当受体的酪氨酸残基被磷酸化的化学计量数不同时，脱敏的速率取决于每摩尔受体中的磷酸酪氨酸的摩尔数（图 12-13c）。因为酪氨酸磷酸不仅存在于 γ 和 δ 亚单位，而且也存在于 β 亚单位（图 12-13a），这一结果提示，β 亚单位对脱敏可能也起作用。

这些发现的意义是什么呢？回忆一下第 11 章的讨论我们可以知道，β-肾上腺素受体和视紫红质的脱敏也能被细胞内位点的磷酸化所调节。很多不同受体家族的成员使用这一机制提示，磷酸化可能参与了许多系统的脱敏。在第 16 章我们将会看到，由**聚集素**(agrin)蛋白促进的烟碱型受体的酪氨酸残基的磷酸化，对突触后膜受体的聚集和突触的形成都是十分重要的。因此通道的磷酸化可能以不同的方式影响神经系统的功能。

磷酸化调控被克隆的离子通道的活性　　上述渐进性归纳方法的推广应用的突出例子，是检测磷酸化对可进行分子克隆的离子通道的作用。克隆通道的异源表达与定点突变相结合，可确定其磷酸化以非常特异的方式影响通道功能的特定氨基酸残基。这种方法已在许多电压依赖性和配体门控离子通道家族的成员上应用，包括我们在上一章讨论

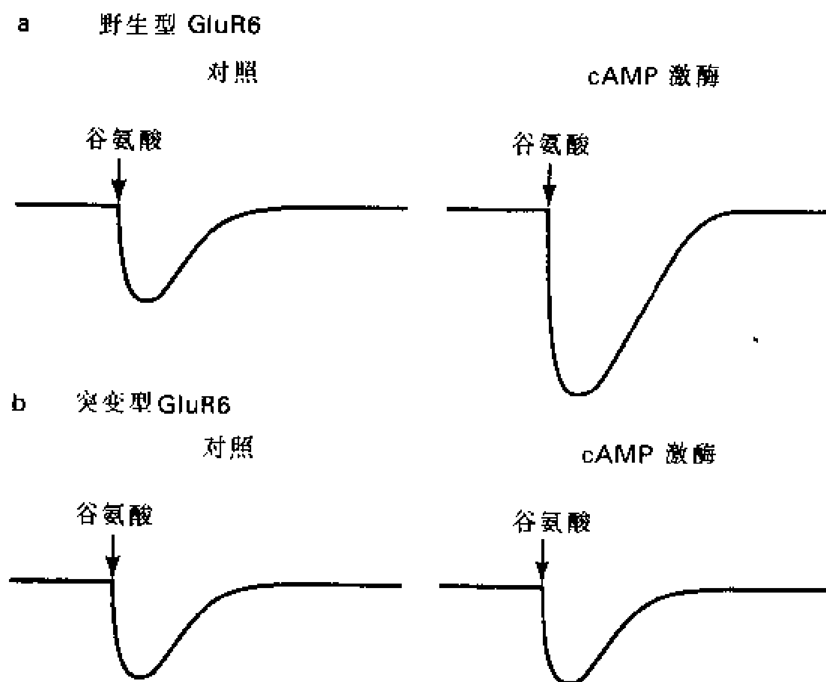


图 12-14　特定的丝氨酸残基的磷酸化调制被克隆的谷氨酸受体/通道的活动。a：KA 受体亚单位 GluR6 的异源表达（见表 10-4）产生谷氨酸激发的电流，该电流可被注入到胞内的 cAMP 依赖性蛋白激酶的具有活性的催化亚单位增强。b：将 GluR6 中特定的丝氨酸残基突变成丙氨酸，则可消除激酶的增强效应（引自 Richard Huganiar 及其同事的实验结果；Raymond et al.，1993）。

到的胞内钙离子释放通道。这里我们将讨论其磷酸化已被研究得很透彻的两种通道作为例子：AMPA/KA 类谷氨酸受体/通道和大鼠脑内的钠通道。

从本章较前部分讨论的研究可知，一些神经元对谷氨酸神经递质的反应受蛋白磷酸化的调制。这种神经调制的分子基础可通过克隆受体进行研究。当被克隆的谷氨酸受体亚单位在哺乳动物非神经细胞株上表达时（见第 4 章），具有功能活性的受体则会插入胞浆膜，利用谷氨酸和其他激动剂则可诱导出内向的钠电流（图 12-14a）。当将 cAMP 依赖性蛋白激酶导入细胞内，诱导的电流会增大（图 12-14a）。已知蛋白激酶识别丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸残基的能力是不同的。而是特定蛋白激酶优先识别位于一特殊的**同构序列**（consensus sequence）内的可磷酸化的残基，不同蛋白激酶识别的同构序列是不同的。例如 cAMP 依赖性蛋白激酶优先磷酸化位于几个碱性氨基酸（精氨酸或赖氨酸）附近的丝氨酸和苏氨酸，而图 12-14 所示的谷氨酸受体亚单位就含有这种同构序列的丝氨酸残基。当这种丝氨酸被突变成丙氨酸以及产生的受体亚单位被表达时，cAMP 依赖性蛋白激酶则不再影响谷氨酸诱发的电流（图 12-14b）。这是离子通道蛋白本身的磷酸化导致对通道特性调制的最直接的证据。在其他 AMPA、KA 和 NMDA 受体亚单位上也得到相似的结果。目前已知其他蛋白激酶可以磷酸化这些受体内位于不同的同构序列内的不同的丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸残基，并且对通道活性产生不同的结果。

在克隆的钠离子通道上也进行了一些类似的实验。我们在第 4 章提到，钠通道 α 亚单位是一个大分子蛋白质，对它的序列检测揭示出几种蛋白激酶（包括 cAMP 依赖性蛋白激酶和蛋白激酶 C）的多种同构序列。早期的生化实验表明，在试管内，纯化的 α 亚单位是这两种蛋白激酶的极好底物。当将编码 α 亚单位的 cDNA 转染组织培养细胞后，膜的去极化激发的通道电流呈一过性，这反映了通道的失活（图 12-15a，与图 5-4 比较）。然后以蛋白激酶 C 的激动剂佛波醇酯或二酰基甘油处理，或在胞内注射有活性的蛋白激酶 C，则能明显地减低失活（图 12-15b）。清除了失活自然就延长了钠电流并明显地影响动作电位的波形。α 亚单位第三和第四同源结构域之间的细胞内环含有一个位于同构序列内易被蛋白激酶 C 磷酸化的丝氨酸残基。当丝氨酸被突变成丙氨酸后，产生的突变通道的失活则不会被蛋白激酶 C 所调制（图 12-15c）。回忆一下，其他实验也提示这个细胞内环在钠通道失活过程中发挥作用（图 4-12）。

探讨蛋白磷酸化对通道调制的特异性也是十分有意义的。克隆的钠通道再次提供了富有启发性的例子。另一种蛋白激酶——cAMP 依赖性蛋白激酶虽然也调制钠通道，但它使钠电流峰值降低而不改变钠通道失活状态。突变研究证实，这种调控由 α 亚单位内另一部分的丝氨酸残基的磷酸化所致，此丝氨酸远离第三和第四同源结构域之间的细胞内环。因此，神经元内不同的第二信使通路的激活可以影响同一种离子通道的活性，但是通过很不同的方式（图 12-9）。

蛋白磷酸酶的作用　　上述发现强调，多种细胞内信号传导通路的参与能解释神经元电活动的调制的极端复杂性。当考虑到脱去蛋白上的磷酸基团的磷蛋白磷酸酶也参与这种调制时，这种调制活动将变得更加复杂。虽然直到最近，磷酸酶的作用仍被严重忽略，但现在已很明显，磷酸酶系是由一类其本身也受到调节的庞大和多样性的酶家族组成。有效和特异性的磷酸酶抑制剂的应用已证明，磷酸酶是控制离子通道活性和诸如神

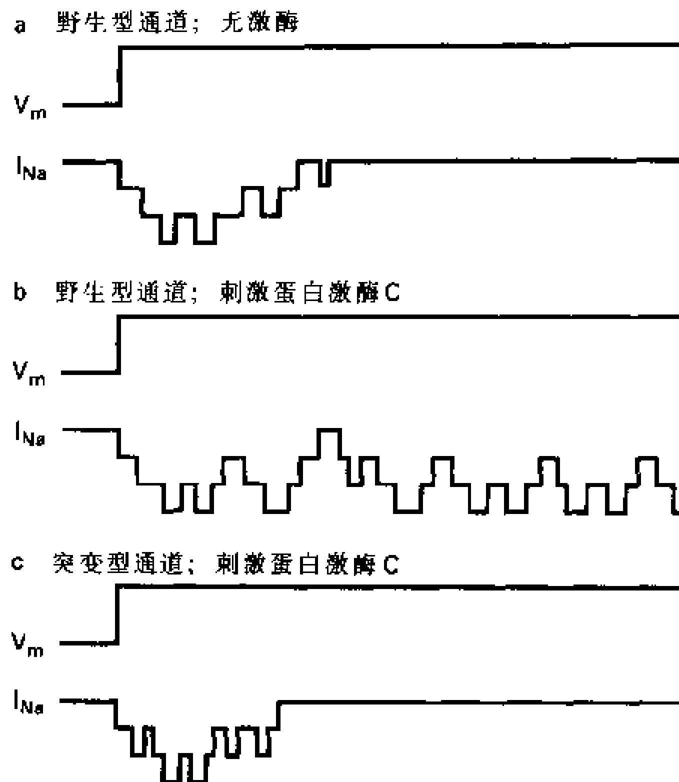


图 12-15 特异的丝氨酸残基的磷酸化调制钠通道的失活。a：哺乳动物细胞株上异源表达的克隆钠通道在一个延长的去极化过程中激活而后快速地失活。b：蛋白激酶C的刺激延缓了失活过程。c：第三和第四同源结构域之间的胞内环上一个特定的丝氨酸的突变消除了蛋白激酶C的延缓效应（引自William Catterall及其同事的实验结果）。

经递质释放等基本的生理过程方面的重要的调节目标。

小结

不同的神经元表现出不同的内源性电活动模式：有些神经元正常时处于电静止状态，其他一些神经元可能不规则地发放动作电位，而另一些神经元则表现出规则的和常常是复杂的发放模式。这些活动模式不是固定不变的，而是很容易受到来自神经元所处环境的刺激的调制。这些调制活动引起神经元的短时程和长时程的功能变化，因此，对于机体的存活是至关重要的。

神经调制的机制也是多样的。我们已经讨论了动作电位幅度和时程、神经元发放模式和对突触传入的效应的调制。这些调制活动经常包含这种或那种离子通道特性的改变，但被调制的离子通道的种类在相邻的神经元上可能是不同的，甚至同一个神经元内对不同刺激作出反应的离子通道的特性也可能不同。因此我们举出这一系列神经调制的例子来说明这个快速地变化着的领域的多样性。很多这些例子的一个共同特征是，神经调制都是通过蛋白磷酸化而实现的。在许多情况下，离子通道蛋白本身的特定氨基酸残基上的磷酸化导致了对神经元电特性的调制。

13

感觉感受器神经元

虽然多数神经元接受来自其他神经元传入的信息，但是脑的主要作用是处理来自外界的信息。为接受外界信息，机体演化出一些特殊分化的细胞，包括视觉、听觉、触觉、味觉和嗅觉细胞，以及感受内部器官所处状态的感觉细胞。感受大多数外部和内部刺激的感觉细胞分为三种类型：(1)感受机械刺激的细胞；(2)感受光刺激的细胞；(3)感受化学环境改变的细胞。此外，还有一些感受其他信号变化（如温度变化）的细胞。在所有情况下，刺激都改变离子通道的活性，有时是通过第二信使作用的，感觉细胞因此为前面章节中遇到的原理提供了清楚的实例。这里我们简要讨论一些变化了的转导机制，在每种主要类型的感觉细胞中都发现存在这些机制。

感受器电位

让我们首先考虑一下在大多数情况下，这些特殊分化的感受器传入到中枢神经系统的信号种类。一些感觉细胞实际上是神经元，其轴突从感觉器官延伸到神经系统的其他部分。外部刺激使感受器膜产生去极化或超极化，称为**感受器电位**（receptor potential)。如图 13-1 所示，感受器电位的时程和幅度通常反映出刺激的时程和强度。如果

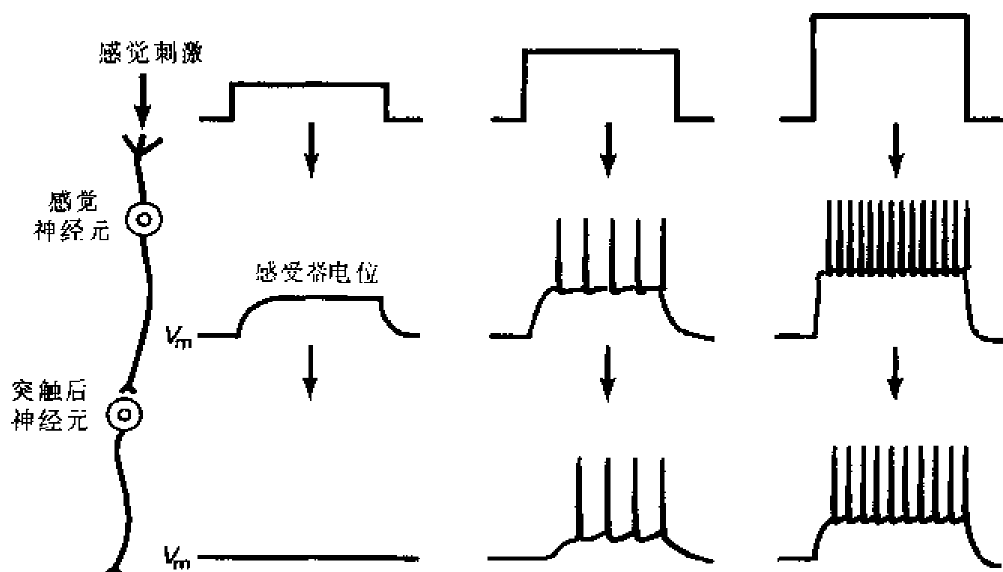


图 13-1 感受器电位及频率编码。感觉刺激的大小决定感受器电位的大小，这随后又以感觉细胞和/或其突触后神经元发放动作电位的频率来编码。

去极化感受器电位大到足以超过产生动作电位的阈值，神经元将发放动作电位，其频率反映了刺激的大小。因此，我们可以看出，刺激强度的信息可被编码为动作电位的频率。其动作电位的频率将决定由感受器神经元组成的第一级突触释放递质的数量，这随后又将控制突触后去极化效应的大小。后者当然又被转换为突触后细胞发放动作电位的频率。

其他感觉细胞没有轴突。尽管在这类细胞有时可以激发动作电位，但感觉刺激引起的去极化或超极化感受器电位通常不能引起其产生动作电位。相反，膜电位的变化改变了神经递质释放到突触后神经元的速率，因此动作电位频率编码只出现在第一级突触以后。如下面将看到的，此类的一个典型例子即脊椎动物光感受器对光产生超极化反应。

机械感受器

在皮内及皮下发现了许多感受物理变化的感觉细胞，叫做**机械感受器**（mechanoreceptor）。它们实际上是神经元，其细胞体位于背根神经节。在前面章节中我们已经讨论过背根神经节神经元的兴奋性。这些机械感受器起作用的终末是它们在皮肤中的轴突末梢。图 13-2 显示出这种末梢的形态很多。**环层小体**（Pacinian corpuscle）是其中一种机械感受器末梢，存在于皮肤深层。它由轴突的裸露末梢组成，外面由结缔组织包绕呈“洋葱皮样”结构。**触觉小体**（Meissner corpuscle）和 **Ruffini 末梢**（Ruffini ending）距皮肤表面很近，由许多神经纤维的精细分支组成，亦有结缔组织包绕。另一些感受器含有裸露的神经纤维，包绕在毛囊的基底部。尽管在图 13-1 我们提示动作电位爆发的频率通常反映了感觉刺激的大小，但由于许多感觉细胞对持续刺激有适应，使情况变得复杂。不同类型的机械感受器尤其如此，其电反应不同：有些感受器当压力作用于皮肤时只触发短暂的电效应，而有些感受器在持续触觉刺激的整个过程中都一直触发动作电位。上述及其他感受器的作用引起皮肤的不同的触觉和压觉。在身体的许多其他部位也发现了机械刺激感受器。例如，在关节和肌肉发现了**高尔基腱器官**（Golgi tendon organ）和**肌梭**（muscle spindle），可提供有关肌肉位置和长度的信息。

仍不清楚机械刺激如何被转导成机械感受器轴突的动作电位。然而值得注意的是，许多细胞具有牵拉激活的离子通道，它们正常时关闭，当胞浆膜受到物理压力时开放。在多种细胞都发现有牵拉激活的通道，其功能不清楚。然而，这些通道有可能是将机械刺激转导为机械感受器电冲动的基础。

耳蜗毛细胞　感受特殊形式机械刺激的**毛细胞**（hair cell），存在于脊椎动物的内耳（这些细胞与图 13-2 所示的支配毛囊的细胞完全不同）。毛细胞在前庭器官和耳蜗都有发现。在前庭器官，毛细胞司职转导关于重力和头部运动的信息，而在耳蜗，它们是听觉系统的感觉细胞。特别令人感兴趣的是，这些发挥听觉作用的细胞，肯定不仅为大脑提供声音强度的信息，而且对不同频率的声波选择性地作出反应。

图 13-3 显示了一个典型的毛细胞。纤毛排列独特，称为**睫**（cilia），位于一端，使毛细胞外形伸长。纤毛有两种类型。大部分（但非全部）毛细胞有一根长的**动纤毛**（kinocilium），在电子显微镜下，与精子尾部活动的纤毛非常相似。其结构由延伸至动

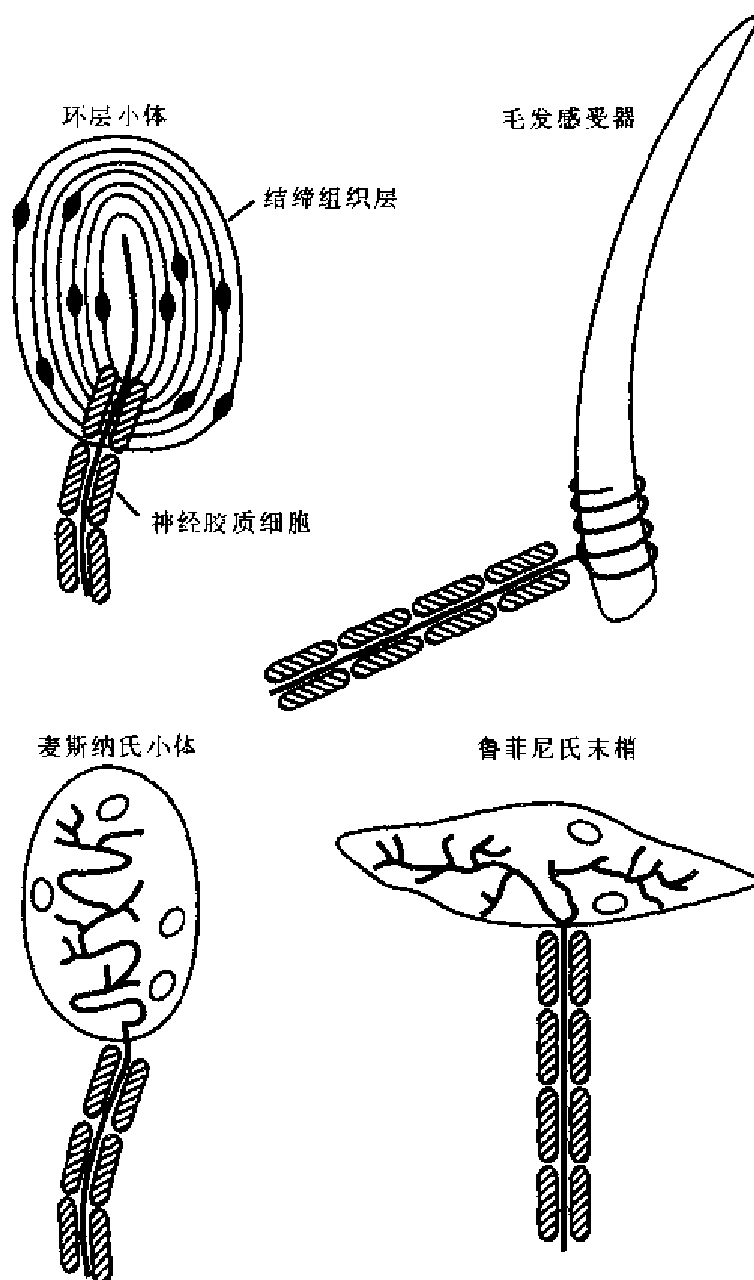


图 13-2 皮肤机械感受器（改自 Martin，1981）。

纤毛全长的微管来维持，其中有两条微管在中央，其余 9 条围绕在周围（图 13-4a）。然而，某些毛细胞，如存在于哺乳动物耳蜗的毛细胞，没有动纤毛仍可很好地执行功能。其余的 30～100 根纤毛存在于所有的毛细胞，其长度有变化，叫**静纤毛**（stereocilia）。其中不含有微管，但含有肌动蛋白细丝和与肌动蛋白细丝交联的蛋白质。全部纤毛聚集起来称为**毛束**（hair bundle）。

感觉毛细胞的毛束还有另一个重要的结构特征。每根纤毛与相邻的纤毛通过非常细小的细丝连接，叫作**端连**（tip link）。顾名思义，这些细丝把纤毛的尖端彼此联系起来（图 13-4b）。端连的连接点锚定在纤毛的膜上，被认为是感觉转导的离子通道所在的位置。

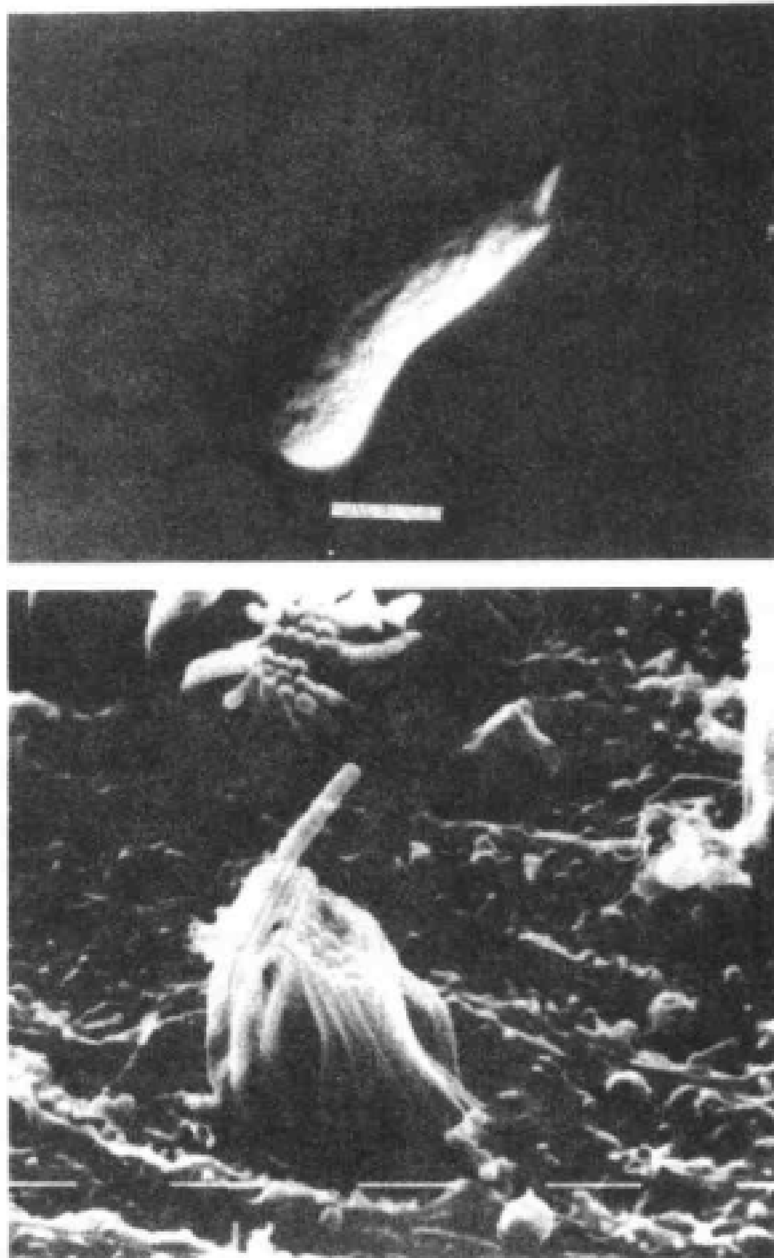


图 13-3 毛细胞。上图为从蟾蜍鱼球囊分离出来的一个单独的毛细胞，纤毛束位于细胞的上端（标尺＝8 微米），下面的电子扫描显微镜图显示这些细胞纤毛的精细结构（标尺＝1 微米）（Antoinette Steinacker 博士惠赠）。

毛束的物理移动引起毛细胞膜电位的快速改变。当毛束向动纤毛的方向移动时，膜去极化 10～20 mV。相反，毛束向离开动纤毛的方向移动使细胞膜超极化（图 13-4b）。膜电位的改变是由存在于静纤毛本身胞浆膜上的离子通道的开放和关闭所致。机械力量拉动或推动端连细丝被认为是通道开放或关闭的原因。这些通道对阳离子如钠离子、钾离子及钙离子相对没有选择性。通道对纤毛的机械移动的反应极快，在 20～100 微秒以内。这意味着通道的开放可能与纤毛的机械变形直接联系，而不是通过第二信使系统。通道的机械偶联机制仍然未知。然而，像我们现在所要描述的，耳蜗毛细胞的一个显著

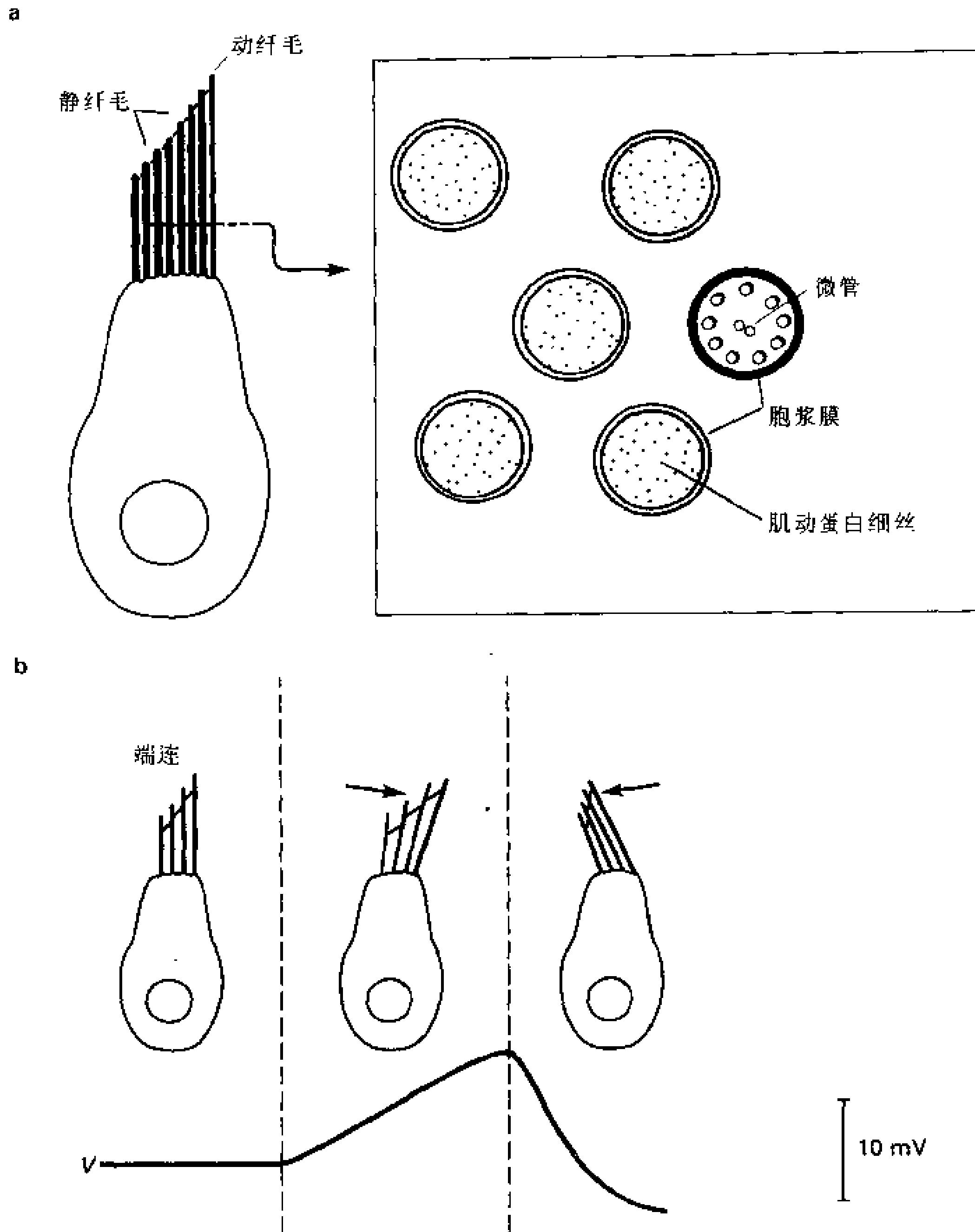


图 13-4　毛细胞纤毛。a：每个毛细胞有一根动纤毛及许多静纤毛。b：毛束向动纤毛移动使细胞去极化；向相反方向移动使细胞超极化。

特征，在于它们的反应被特异地转换成声音的不同频率。

毛细胞受到耳蜗位置及电谐振的调谐　　图 13-5 显示不同的毛细胞对不同的声音频率都有最适反应。这在几种不同的毛细胞的**调谐曲线**（tuning curve）中有所描述，曲线表示不同频率的声音强度必须被转变成膜电位的固定变化。决定单个细胞调谐曲线的一个因素是其在耳蜗的位置。毛细胞的细胞体与它们的支持细胞一道在耳蜗中形成了一个细胞层。正常情况下毛束的尖端与**顶盖膜**（tectorial membrane）相接触，顶盖膜是

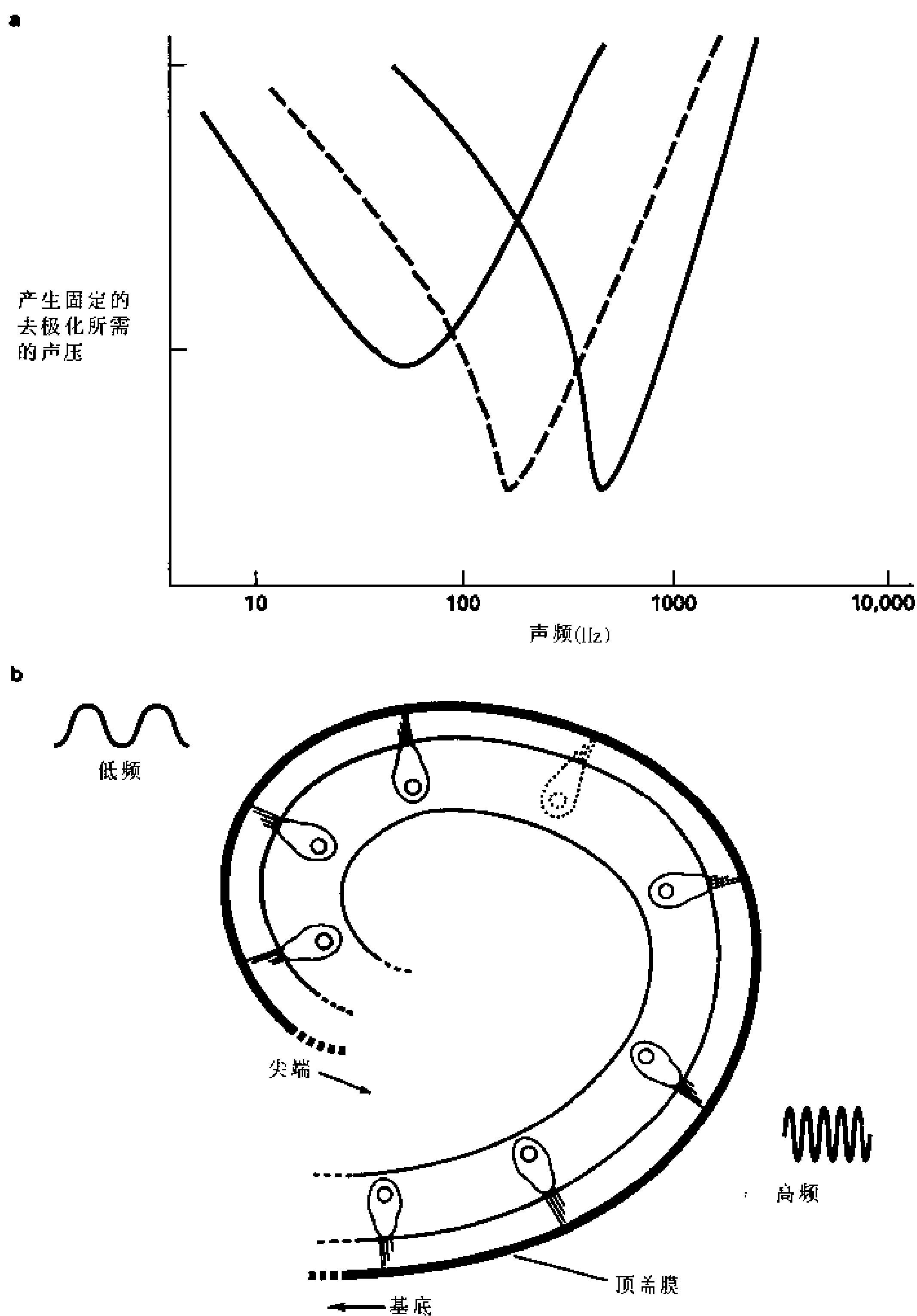


图 13 5　毛细胞的调谐。a：三种不同细胞的调谐曲线。b：有着不同频率反应的细胞沿耳蜗的空间定位。

一个坚硬的含糖层，位于细胞体层的上面。声波引起的振动进入耳蜗，引起耳蜗顶盖膜相对于下层细胞作侧向的移动，随后使毛束弯曲，将机械振动转换成毛细胞膜电位的电谐振。

哺乳动物耳蜗是一种伸展结构，折叠成类似蜗牛壳的螺旋状（图 13-5b）。毛细胞层从螺旋的基底部延伸到顶部。耳蜗的这种力学设计，与顶盖膜全长厚度的改变相联系，使得毛细胞对不同频率的声音有选择性地反应。像一百年前由德国物理学家 Helmholtz 首先提出，于 20 世纪 50 年代被 Georg von Bekesy 详尽地阐述的，低频声音引起耳蜗顶端的最大振动。相反，高频声音使位于基底部的细胞毛束得到最大的移位。因此毛细胞反应的最适频率是由其在耳蜗螺旋中的物理位置决定的。

在鸟类及两栖动物（如牛蛙和海龟）中，发现了另一种调谐机制。这些动物毛细胞的膜电位自发地振动，或能因短暂的去极化诱导而振动（图 13-6a）。尽管振动频率可因去极化电流或超极化电流的作用而增加或减少，每个毛细胞在其静息电位附近有其特定的振动频率。不同毛细胞的特定频率的变动从每秒几十次到每秒几百次。当细胞接受其特定频率的声波刺激时，则产生膜电位的最大波动（图 13-6b）。较高或较低频率的声音对该细胞作用较小。多数振动只能用两种类型的离子通道来解释：钙通道和钙激活的钾通道。钙通道的开放引起振动的去极化时相。随着钙离子进入细胞，钙依赖性钾通道开始被激活。当钙依赖性钾通道开放得足够多时，膜发生超极化而钙离子内流减少。当细胞内钙降低时，钾通道关闭，而钙通道又被激活，重新开始循环。

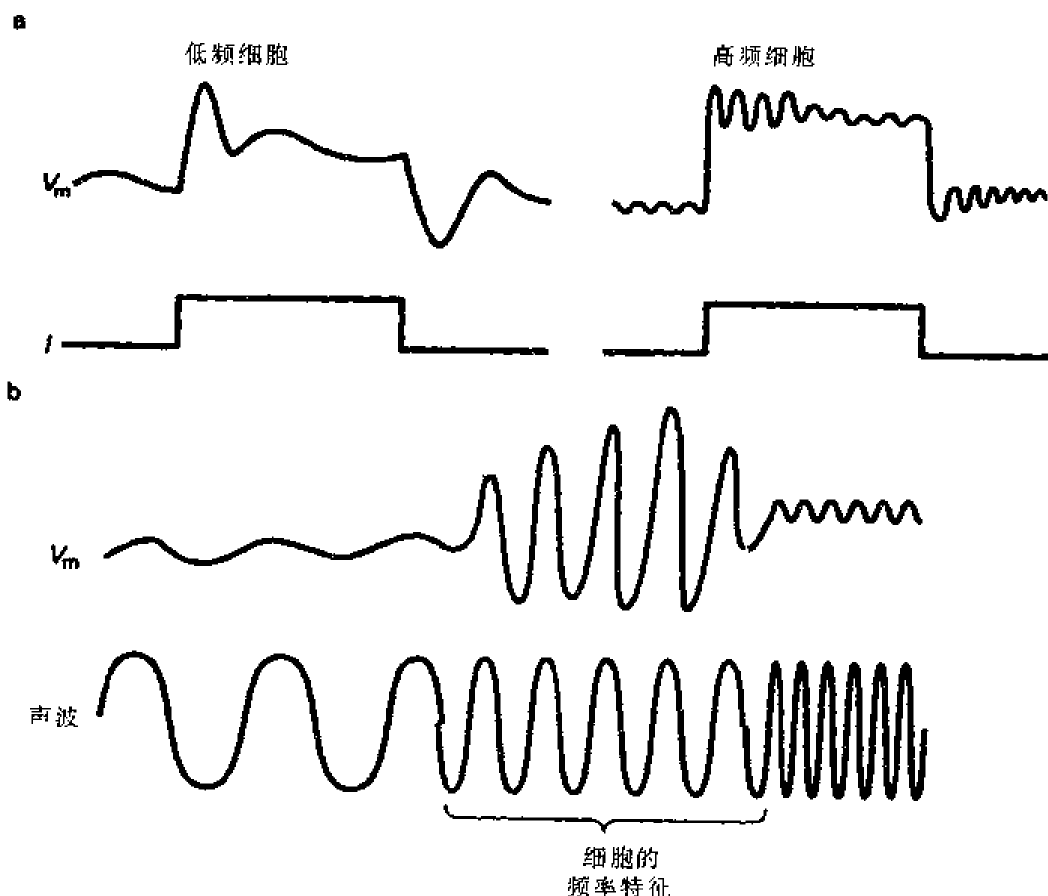


图 13-6　毛细胞的膜电位波动。a：Fettiplace 和他的同事记录到内源性波动及去极化电流引起的波动。b：细胞特定频率的声波引起膜电位的最大波动。Lewis 和 Hudspeth（1983）运用毛束机械摆动作为刺激也做出了此类实验。

如何实现对不同频率的声音进行调谐？钙离子流在不同的毛细胞间并无区别。相反，钙依赖性钾电流激活的速率在不同细胞间变化很大（图 13-7）。正是钾离子流的这种动力学的差异，造成了毛细胞不同的特定振动频率。是什么决定了不同毛细胞的钾通道的动力学，这个尤为有趣的问题仍没有答案。可能是通道蛋白质本身不同，因此在不同细胞有不同的调节方式；或者是有关钙进入位点的位置不同。用这种电谐振来调谐单个细胞，有助于鸟类及两栖动物的细胞在小范围听觉频率内有选择性地反应，尽管从哺乳动物毛细胞记录较为困难，目前尚无证据显示在哺乳动物存在这种调谐。然而奇怪的是，在许多神经系统，并没有细胞对特定刺激的频率作某种程度的电调谐。

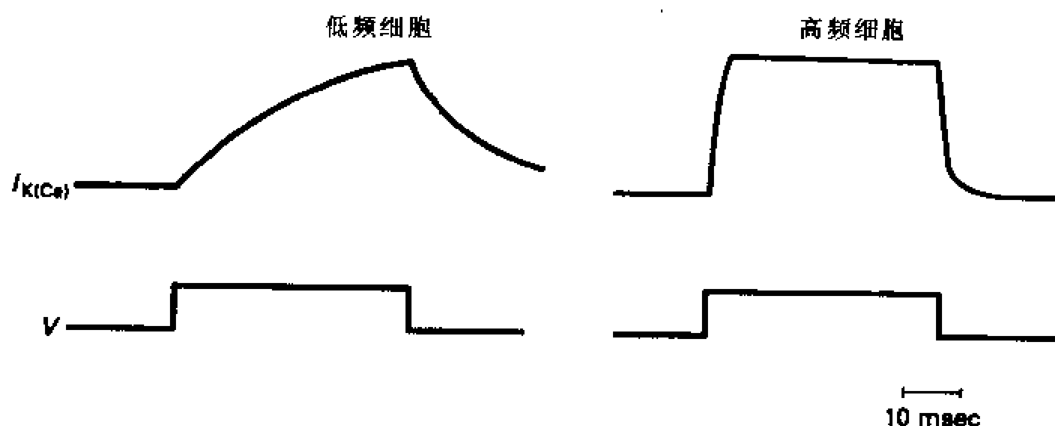


图 13-7 毛细胞中钙依赖性钾电流。Art 和 Fettiplace（1987）运用电压钳记录在高频反应细胞中发现快速激活的电流。

外毛细胞的机械调谐　在哺乳动物耳蜗中有两种类型的毛细胞。被称为**内毛细胞**（inner hair cell）的是真正的感觉感受器，能把信息转导到脑内。在人类耳蜗中有大约 4000 个这种内毛细胞。沿耳蜗的全长，与这行内毛细胞平行，有三行**外毛细胞**（outer hair cell）（图 13-8）。外毛细胞的性质与内毛细胞的性质完全不同。例如，它们接受脑干听神经核的输出信息，而不是传送信息给脑。然而外毛细胞最显著的特征是它们对电刺激的快速反应。

与大多数细胞包括内毛细胞相反，外毛细胞的胞浆膜由于排列于膜内的**皮质细胞骨架**（cortical cytoskeleton）而得以保持相对坚硬。用冰冻蚀刻技术观察（图 7-2），发现膜本身存在很厚的膜内粒子排列。在对电刺激或乙酰胆碱的效应过程中，膜收缩使细胞缩短（图 13-8b）。乍一看，这种效应似乎类似肌细胞的反应，但二者存在一个关键的区别：在对电压改变发生反应时外毛细胞长度改变得极快。因此这种毛细胞的收缩可由频率 3000～8000 Hz 或更高的刺激产生。这种反应速度完全排除了在肌肉中所发现的收缩机制。

外毛细胞收缩蛋白的性质仍未知。外毛细胞产生快速收缩的能力被认为是导致了膜的移动，而纤毛被包埋在其中，使膜对不同频率的声音进一步地调谐。然而有关这种调谐的信息是通过较少的内毛细胞传送到中枢神经系统的。

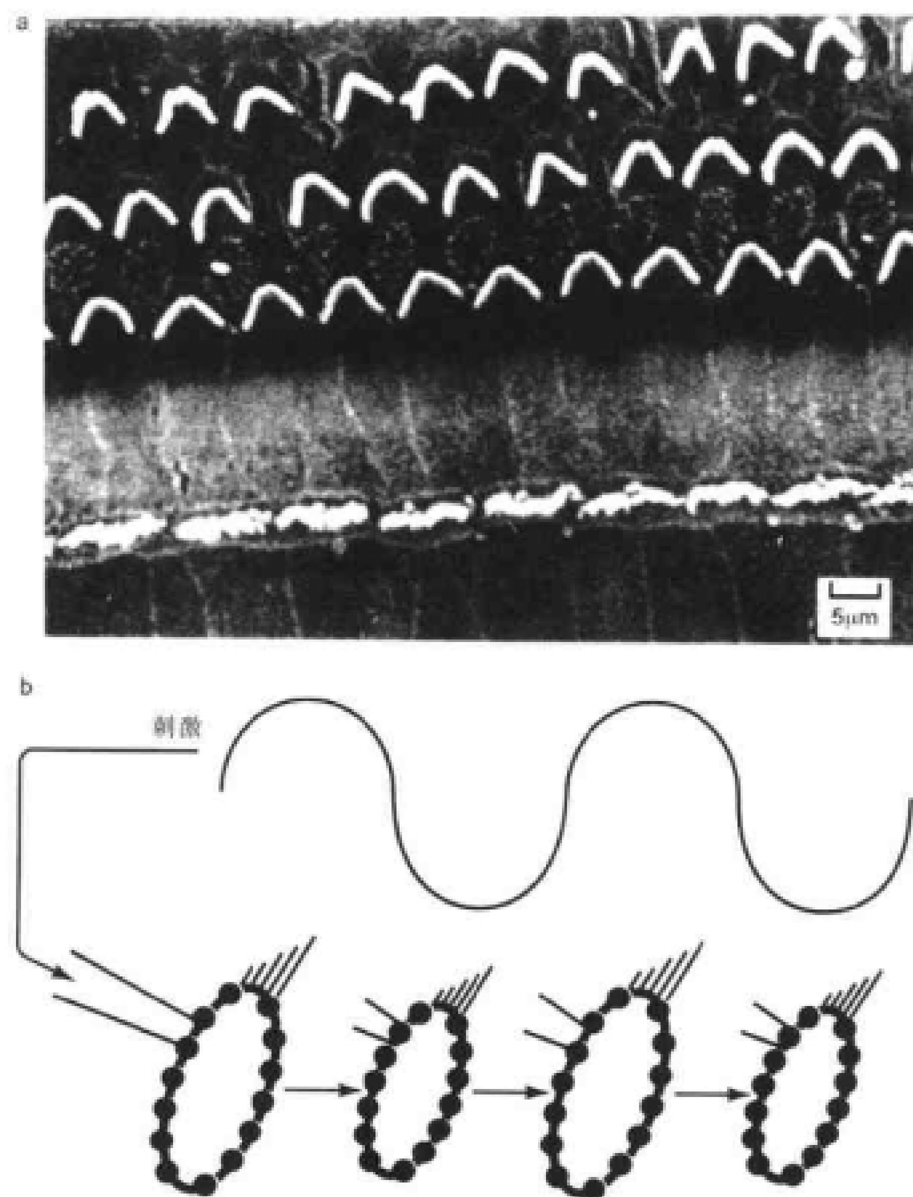


图 13-8 外毛细胞。a：电子显微镜照片显示了三行外毛细胞和一行内毛细胞的上面观。外毛细胞的静纤毛在每个细胞上排列成 V 形，而内毛细胞的静纤毛排列成直线形（Pickles，1988）。b：通过膜片微管给单个毛细胞正弦刺激，出现收缩和松弛的交替变化。胞浆膜中的收缩蛋白以红色表示。

光感受器

视觉刺激被转换成视网膜上光感受器细胞电活动的方式，较任何其他感觉被了解得更清楚。被称为**光转导**（phototransduction）的过程实际上发生在多种细胞。例如，鸟类拥有视**网膜外感受器**（extraretinal receptor），位于其脑内的松果体腺。这使得鸟类即使在缺乏视网膜的作用时也能感受它周围环境的光线变化。脊椎动物视网膜有两种细胞类型：**视杆细胞**（rod）和**视锥细胞**（con），它们对不同波长的光线有不同的敏感性和

不同的反应。视锥细胞又可被进一步的分为优先感受不同颜色的细胞。然而在各物种中，视杆细胞是最有利于研究视觉转导的细胞类型。

视杆细胞、视紫红质和 cGMP　图 13-9 显示了视杆细胞光感受器的结构。视杆细胞有两部分。**视杆外段**（outer segment）是细长的并含一叠由内膜构成的**盘**（disc）。它通过一道细小的桥与细胞的其余部分——**内段**（inner segment）相连接。内段包括核、线粒体及与视网膜其他神经元形成突触的突触前终末。外段是在视觉转导中起作用的末端。在内膜盘中发现有光敏感的蛋白**视紫红质**（rhodopsin）。视紫红质是由**视蛋白**（opsin）与光敏感性分子或叫作视黄醛的发色团相连而构成。视黄醛可以多种不同形式存在，11-顺视黄醛和全反视黄醛是其中两种主要形式（图 13-10）。视蛋白或视黄醛本身并不吸收可见光。然而当二者结合时，光于的吸收则引起视黄醛由 11-顺视黄醛异构成全反视黄醛。

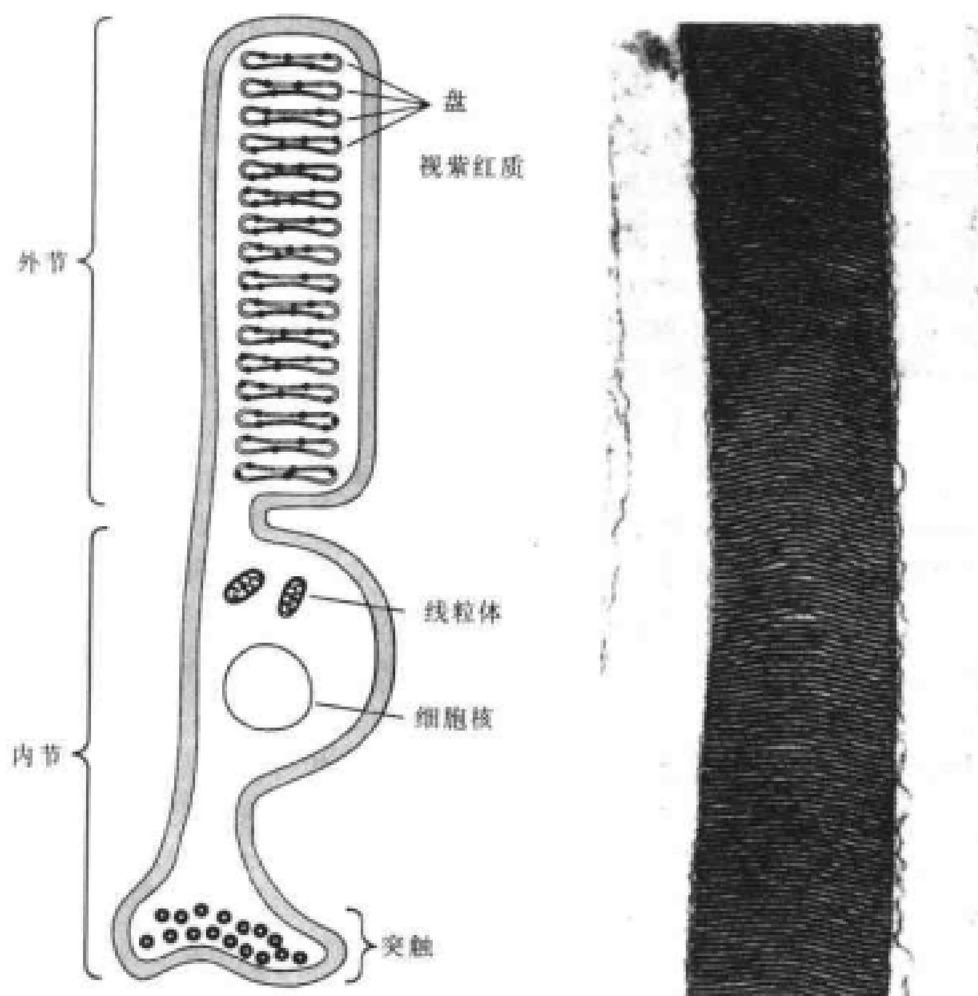


图 13-9　光感受器。左图是完整的视杆细胞光感受器。右图是微照片只显示了蝾螈视锥细胞的外段（John E. Dowling 惠赠）。

光依赖性视黄醛异构引起蛋白质结构的重排。以这种方式激活的视紫红质叫作**异-视紫红质**（meta-rhodopsin）。在随后的视觉转导所有步骤中，把异-视紫红质看作是与

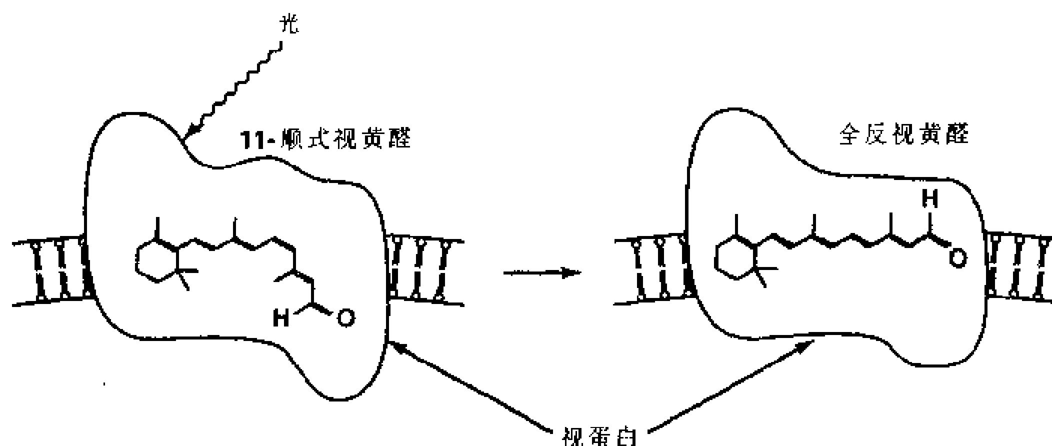


图 13-10 视紫红质。视紫红质由视蛋白与光敏感分子视黄醛连接而构成。光诱导视黄醛异构化是由 George Wald 发现的。

神经递质结合的受体的类似物是很有用的。事实上视蛋白的结构与神经递质受体如 β-肾上腺素受体非常相似。β-肾上腺素受体等通过 GTP 结合蛋白而发挥作用。因此不奇怪，异-视紫红质产生以后的步骤包括通过 GTP 结合蛋白的作用而产生第二信使。在第 11 章我们已经讲过这种蛋白，叫转导蛋白 G_T。

当异-视紫红质与转导蛋白 G_T 结合时，GDP 被 GTP 代替、转导蛋白 G_T 的 α_T 亚单位从它与 βγ 亚单位形成的复合体中解离。新解离的 α_T 作用的靶分子是膜性圆盘上的磷酸二酯酶，该酶将第二信使 cGMP 裂解成 5′-GMP。即使在黑暗中，由于鸟苷酸环化酶合成 cGMP 的速度与磷酸二酯酶降解 cGMP 的速度保持平衡，所以外段中 cGMP 的水平得以维持。暴露于光刺激之后形成的 α_T 的作用是激活磷酸二酯酶，从而使 cGMP 水平下降。这种下降发生在光闪过后的 100 毫秒之内，快得足以产生视觉反应。在很多方面，光感受器产生反向的变化。当受光刺激后，它们的反应通过其第二信使 cGMP 的浓度的下降而非上升来产生。正如下面将要讨论的，这引起了通道的关闭（这些通道由于 cGMP 的存在通常保持开放），而通道的关闭导致了细胞的超极化和突触终末递质释放速率的减少。

这种异-视紫红质形成之后的级联反应导致对光产生的信号被极显著地放大。据估计，由单个光量子的作用而形成的单个异-视紫红质分子，在它失活之前，在膜内扩散并激活几百个转导蛋白分子（见下文）。接着 α_T 对磷酸二酯酶的激活又进一步扩大，以致于单个的光量子能够导致超过 10^5 个 cGMP 分子的破坏。

cGMP 门控通道　cGMP 水平的改变是如何被转换成光感受器的电效应的呢？为理解这个问题，我们必须首先了解视杆细胞在黑暗状态下静息时的电特性。外段胞浆膜上的主要离子通道类型是一类允许钠离子和钙离子进入细胞的通道。由于细胞外液中有丰富的钠离子，通过这些通道进入外段的离子主要是钠离子。这些通道的开放和关闭对膜电位的依赖性不大。从第 4 章的讨论可知，具有这种钠离子通道优势的细胞有可能有较正的静息电位。然而，视杆细胞钠离子通道的作用是被钾离子通道所抗衡。有趣的

是，这些钾通道被发现于细胞一个极不相同的部分，即包含核及突触终末的内段膜内。因为在内段和外段之间存在良好的电连续性，所以平均膜电位由于钾通道开放而保持相当负的水平。然而，通道的这种空间分布造成了一种循环电流，叫作**暗电流**（dark current），它通过外段钠离子通道流入，通过桥进入内段，再通过钾通道流出（图 13-11）。

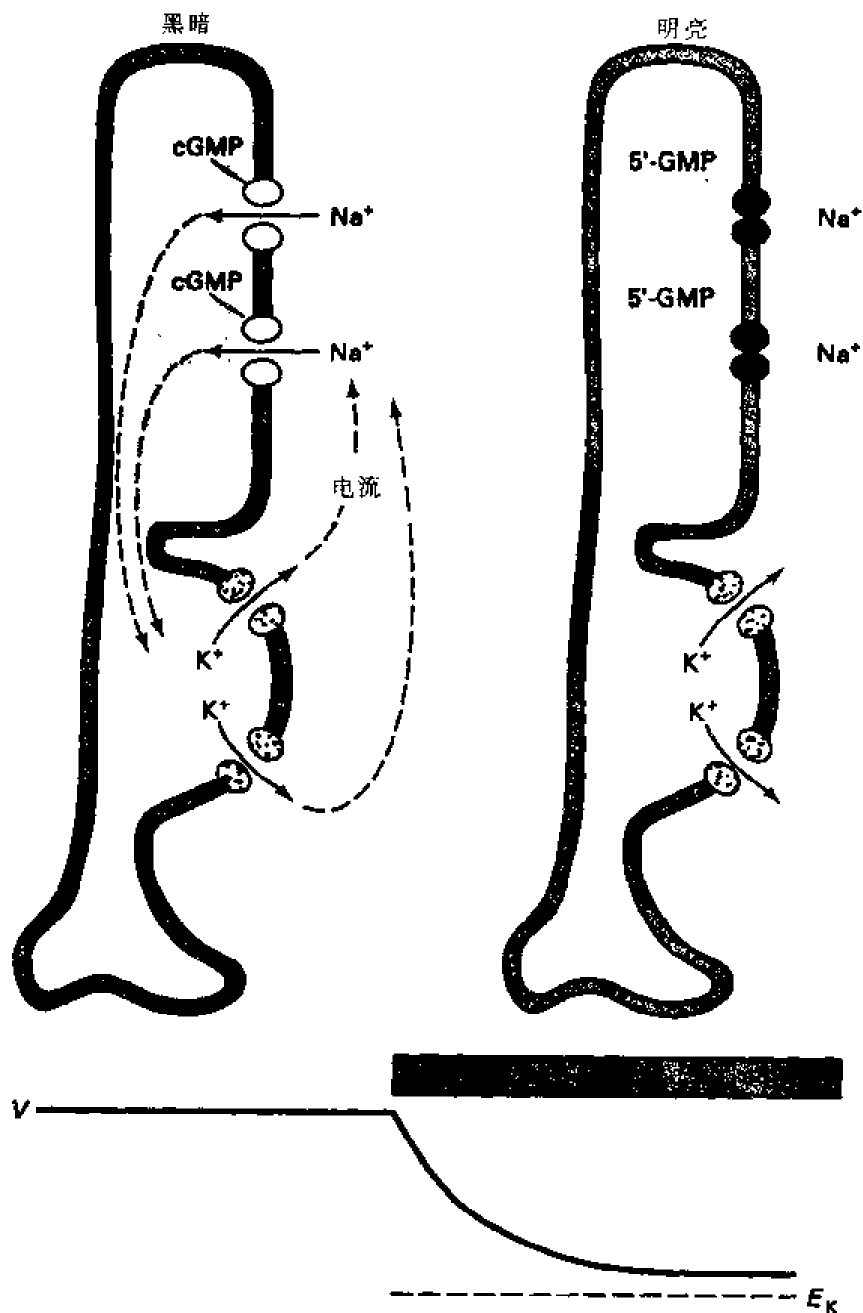


图 13-11　暗电流。在暗处，电流经钠通道进入视杆细胞光感受器的外段。光脉冲使这些通道关闭，导致视杆细胞超极化。

明亮光线作用于视杆细胞，使外段的许多钠通道关闭。这导致暗电流的显著减少（图 13-11）。结果内段仍保持开放的钾通道使细胞向 EK 超极化，导致突触终末神经递质自发释放的减少。钠通道的关闭直接导致外段胞浆内的 cGMP 的下降。

尽管在第 11 章我们描述了第二信使如 cAMP 和 cGMP 经常参与蛋白激酶的作用过程而发挥作用，但在视杆细胞外段则不是这样。相反，看来钠通道与 cGMP 直接结合，并且只在结合 cGMP 时保持开放状态。这可以通过对取自外段的膜进行内面向外膜片

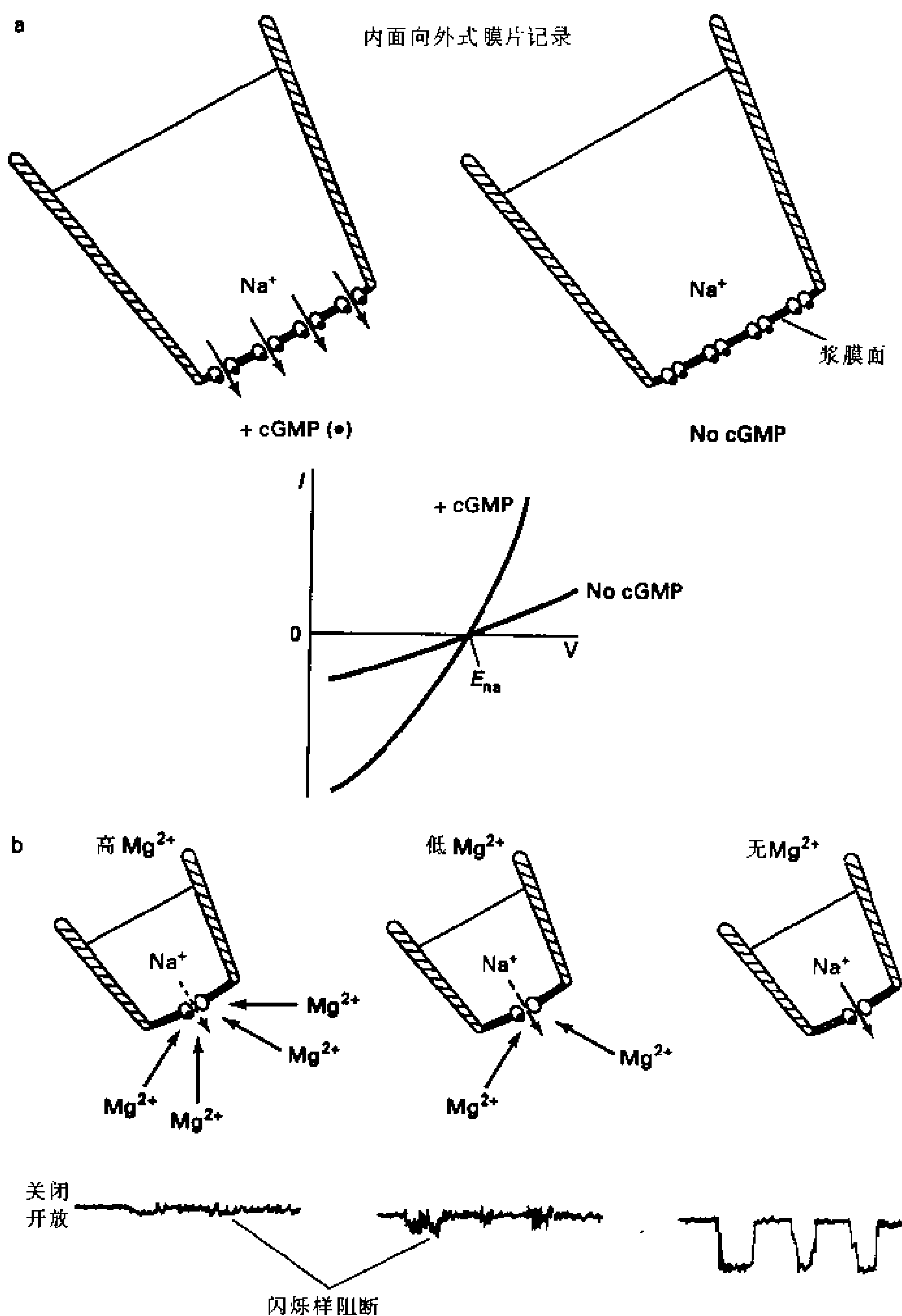


图 13-12 cGMP 开放钠通道。a：当 cGMP 加入来自于视杆细胞光感受器的内－外膜片的胞浆面，由线 I-V 的改变反映出钠电导的增加。这是由 Evgeniy Fesenko 和他的同事观察到的。b：从记录溶液中去除二价阳离子，cGMP 调节通道的“闪烁”阻断作用被减弱（Haynes et al.，1986）。

记录得到证实。当在膜片的胞质面加入 cGMP，可测量到电导有极大的增加，这可归因于钠通道的开放（图 13-12a）。这个过程中没有 ATP，而任何蛋白激酶的激活都需要 ATP。

这些钠通道的一个令人感兴趣的特征是，通常情况下单个通道的电导极低。在第 4 章我们曾提到过，典型的生物膜上开放通道的电导范围从 5 到 400 pS。相反，这些视杆细胞通道的电导只有约 0.1 pS。事实上，因其电导太低，用膜片钳设备分析不到单个通道的开放或关闭，其电导的测量只能用另一技术（**噪音分析**，noise analysis）来测量。对其低电导的一种解释是，这种通道被正常存在于生理溶液中的钙离子和镁离子部分阻断。这些离子进入通道口形成的持续阻塞，产生了一种“闪烁”的阻断效果，有效地减少了通道开放时的电流量。当钙离子和镁离子从溶液中被除去，这种阻断效果减弱，并可测量到单个开放和关闭的通道的电导约为 25 pS（图 13-12b）。

这个不寻常的通道已被纯化，其基因也已克隆。这个通道是由至少两种蛋白，α 和 β 两种亚单位组成的四聚体。奇怪的是，每个亚单位都表现出与第 6 章所讲到的钾通道的**颤动**（*Shaker*）家族具有密切的联系。尽管在不存在 cGMP 的情况下该通道不能被电压激活，它仍然保留有与钾通道的电压传感器类似的 S4 区域（图 13-13）。而且，其孔道区域非常类似于钾通道的孔道区域，但缺乏两种氨基酸：酪氨酸和甘氨酸，这两种氨基酸是钾通道选择性所必需的氨基酸。结果导致光感受器通道的孔道对阳离子相对没有选择性；而在生理情况下，通过该通道的大部分电流是由钠离子携带的。cGMP 与通道的结合发生在羧基末端，其序列与 cAMP 和 cGMP 依赖性蛋白激酶的环核苷酸结构域非常相似。然而，cGMP 在这些位点的结合，导致通道的直接激活而不是触发酶反应。像在本章稍后部分我们将要看到的，环核苷酸门控性通道家族的其他成员在除视觉以外的其他感觉转导中也起了关键作用。而且，在除感觉细胞外的其他细胞中也发现了一些这种通道。

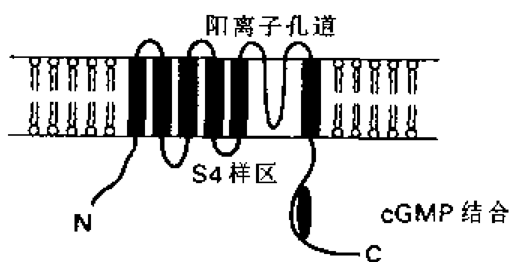


图 13-13 cGMP 门控性阳离子通道的假设性膜结构。与颤动钾通道的结构比较（见图 6-11）。

光反应的终止 当我们思考对闪光的反应如何被终止时，可对视觉转导与神经递质作用间的类似性作进一步分析。在第 11 章我们讲到视紫红质可被类似 β-ARK 的视紫红质激酶磷酸化，β-ARK 能使 β-肾上腺素受体磷酸化并导致其下调。视紫红质激酶优先磷酸化异-视紫红质。这种磷酸化促进异-视紫红质与**捕获蛋白**（arrestin）结合，捕获蛋白是一种 43 kDa 的蛋白质，其功能是防止异-视紫红质进一步激活转导分子，从而终止光反应。当磷酸化以后，全反视黄醛与视紫红质解离，离开视蛋白，而视蛋白能再次被光激活之前必须先与 11-顺视黄醛结合。

图 13-14 的简图，表示我们所讲到的循环反应。视觉转导的许多特征仍未明了。例如，钙离子亦可通过外段阳离子通道进入，而人们猜想细胞内钙离子的改变在视杆细胞的光适应中起了重要作用。而且，一些非脊椎动物光感受器有着与脊椎动物级联不同的机制。尽管这些细胞的转导机制不完全清楚，但光可刺激 IP_3 的形成，IP_3 则可通过钙

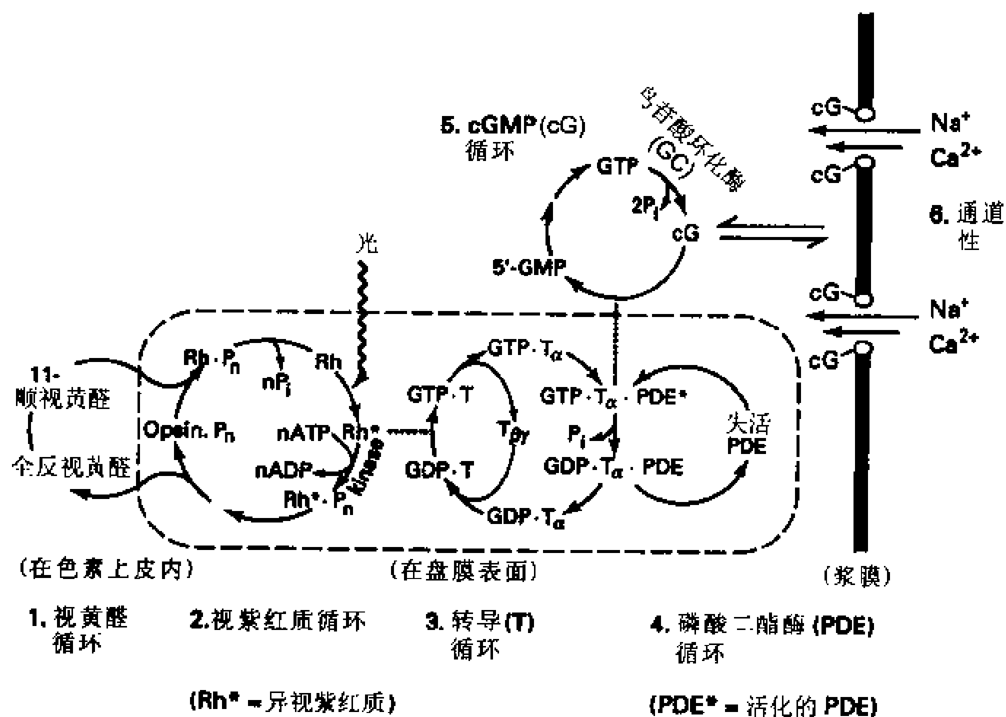


图 13-14 视觉转导中的循环反应，本简图中有活性的信使以红色加以
1986)。

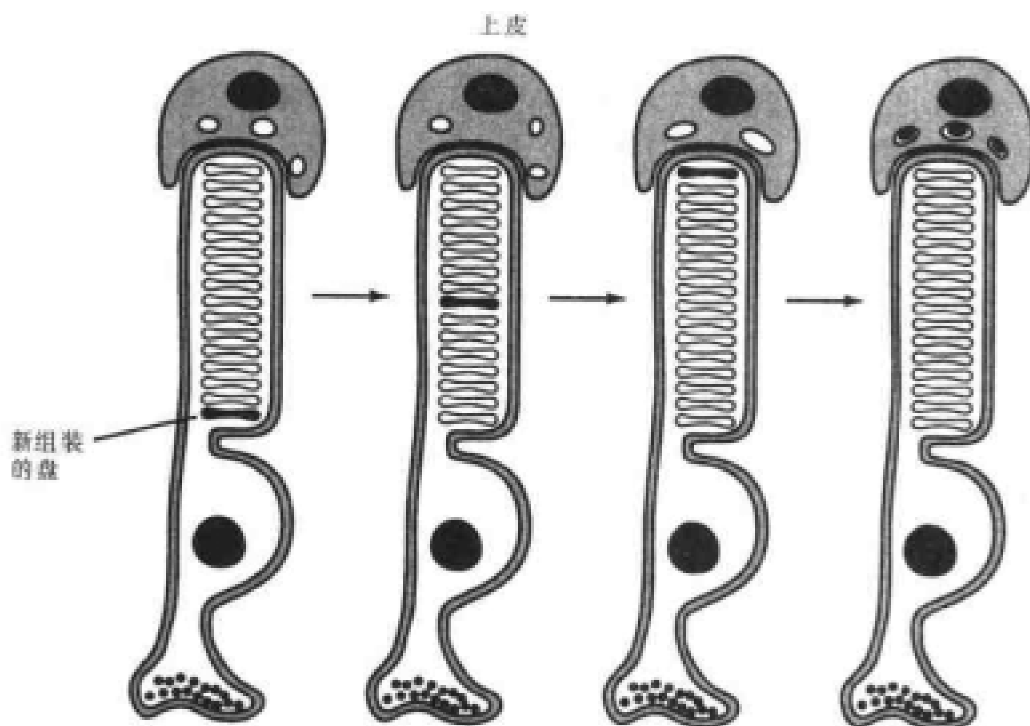


图 13-15 光感受器盘的更新。新的盘在外段基底部被组装，移行到细胞顶端，在那里被降解。

的释放调节对光的反应（见第 11 章）。这再次强调了视觉转导和神经递质作用的相似

性。

在我们离开光感受器的话题之前，值得一提的是，外段的结构是动态的。存在于外段顶端的上皮细胞不断地吞噬并消化最外层的顶端及它包着的含有视紫红质的盘。新的包含转导装置的膜性盘不断地在外段基底部附近组装以代替降解的盘（图 13-15）。盘的更新迅速，许多圆盘在 1 小时内被替代。对视觉转导成份的功能而言，“更新”意味着“更好”，其原因我们仍不清楚。

化学感受器

嗅觉系统　**化学感受器**（chemoreceptor）细胞的作用是把化学环境改变的信号传递给神经系统。化学感受器的主要用途是形成身体特殊的**味觉**（gustatory sense）和**嗅觉**（olfaction）。其中嗅觉的特异性尤其显著，因为它能分辨不同的有气味的分子。图 13-16a 显示了三种分子的结构，乍一看，它们似乎在形状和大小上有着相似性。然而，它们引起的感觉毋庸置疑地表明它们刺激了嗅觉系统中不同方式的神经元活动。

图 13-16b 显示了脊椎动物嗅觉化学感受器的解剖结构。它们是在鼻上皮内排列成层的神经元。其轴突延伸到脑内，在那里与嗅球形成突触。每个感受器神经元有树突延伸到鼻孔中的黏膜层，在那里形成树突结，从树突结又分出细小的纤毛伸进黏膜中。正是细胞的这一部分对黏膜上流动的空气所产生的有气味分子作出反应。

也许不奇怪，嗅觉系统对有气味分子的反应源于直接类似于神经递质的过程。毕竟，有气味的分子只是简单的化学物质，必须与感觉细胞的受体相互作用。然而，嗅觉系统必须能对大量可能的气味分子作出适宜的反应。据估计，我们可以分辨环境中 5000 种不同的气味并可察觉更多的气味。为完成这种功能，进化出大量的不同受体分子，即**嗅觉受体**（olfoction receptor）蛋白。

像视觉系统的视紫红质一样，嗅觉受体蛋白有 7 个疏水的跨膜区，是我们在第 11 章所讨论的 G 蛋白受体家族的成员。多数组织和部分脑组织只需要相对少量的这种受体，使得它们能对激素和神经递质做出适宜的反应。然而，有多达 1000 种不同的嗅觉受体蛋白，每种都由其独自的基因编码。不同嗅觉受体的氨基酸序列有足够的相似性，可确定它们是属于同一密切相关的蛋白质家族。由于一些家族成员较其他成员具有更密切的相关性，因而也有可能将这个庞大的家族分成一些特殊的亚家族。然而尽管存在这些相似性，不同的家族成员仍有几个序列高度不同的蛋白区域。在第 3、4 和 5 跨膜区段具有最显著的多样性（图 13-17）。据认为正是这些区段与特异的气味分子结合。

嗅觉受体分布在嗅觉感受神经元，单个的感受细胞只表达一个或极少的嗅觉受体。可能极低浓度的特殊气味分子只激活一个特殊的受体。然而，高浓度的气味分子可能激活几个不同的受体。因此气味的性质由气味分子所激活的感觉神经元的特殊结合所编码。在某些特殊情况下，化学感受器细胞纤毛的嗅觉受体只对一种特定的气味作出反应。例如，有许多物种用气体或水中的性外激素来影响其性伙伴的行为。这些分子的结构通常固定，因而可能这些分子的特异受体激活了从嗅觉神经元到控制生殖行为的神经元之间的直接联系。

化学感受器细胞的激活和光感受器细胞的激活之间存在更多的相似性。就像光感受

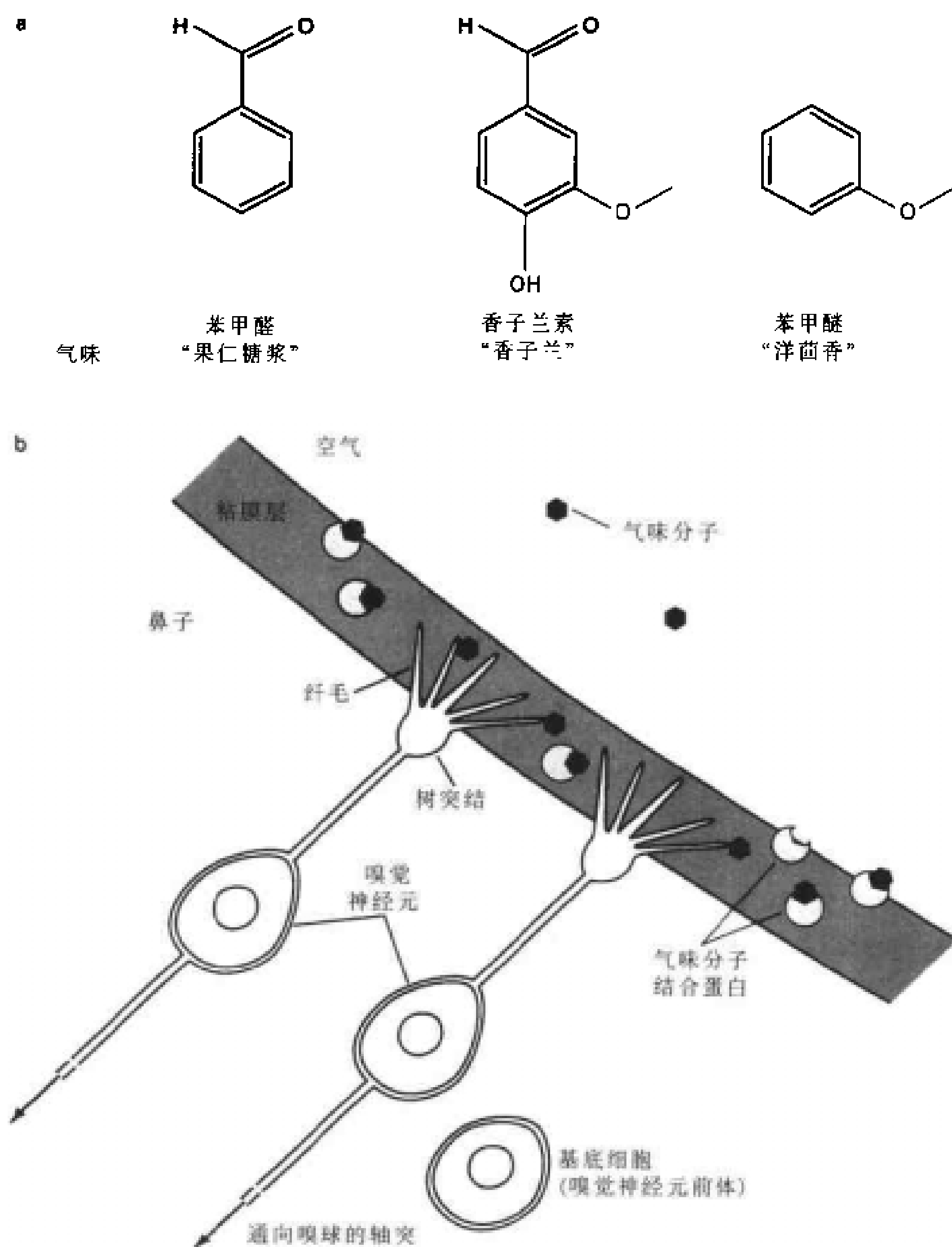


图 13-16 嗅觉。a：三种具有截然不同气味的芳香化合物。b：气味分子在嗅觉神经元的运输。

器的转导是特异性的一样，存在一种叫作 $G_{\alpha lf}$的 GTP 结合蛋白，对嗅觉神经元具有特异性。然而，cGMP 似乎不参与嗅觉机制。相反，暴露在许多气味分子中，会导致腺苷环化酶的激活及 cAMP 的产生或三磷酸肌醇的形成，三磷酸肌醇是磷酯酶 C 激活的产物（参见图 11-13）。cAMP 水平的升高，激活胞浆膜上的阳离子通道，其结果产生了类似于视杆细胞的电效应，它产生较慢，先伴随着在应用气味分子之后几百毫秒之内产生的内向电流。嗅觉细胞的这个阳离子通道非常类似于光感受器的阳离子通道（图 13-

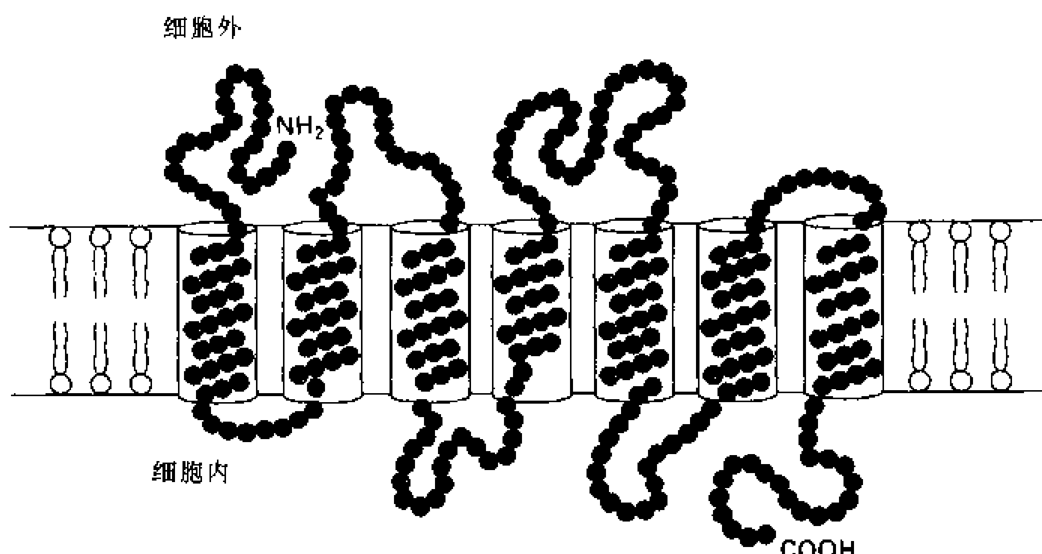


图 13-17 气味受体蛋白。单个氨基酸以实心圆表示，在不同气味受体蛋白中变异最大的氨基酸残基以红色表示（改自 Ressler et al., 1994）。

13)，且是同一个通道家族的成员。因此 cAMP 直接与通道蛋白的结合导致该通道的开放。然而，嗅觉通道与视杆细胞通道的不同之处在于，它既能被 cAMP 开放，又能被 cGMP 开放；而视杆细胞对 cGMP 具有高度的特异性。

嗅觉和视觉转导的另一个相似点，是光敏感物质视黄醛和嗅觉分子被运输到感受器细胞的方式。在视觉系统，视黄醛是由相关分子维生素 A（高度亲脂性的分子）合成而来。它以和称为**维生素 A 结合蛋白**（retinol-binding protein）的转运蛋白结合的形式转运到视网膜。这种蛋白与**气味结合蛋白**（odorant binding protein）的结构关系密切，气味结合蛋白是两个完全相同的 19 kDa 亚单位组成的二聚体，存在于嗅毛的黏膜中。气味结合蛋白的主要作用是，连接并浓缩气体中的气味分子，然后把它运输到纤毛的顶部（图 13-16b）。

嗅觉神经元的一个特别令人感兴趣的方面是，不像大多数其他神经元，它们并非是一成不变的。在视网膜，可以看到光感受器不断地更新它们的外段。成人嗅觉系统的更新是通过破坏全部的嗅觉神经元并以新的神经元来替代它们而完成的。新的神经元由前体细胞以胚胎发育中神经元形成的相似的方式发育而来（第 4 章）。新形成的嗅神经元的轴突必须延伸到存在于成人嗅球中的它们的突触后靶细胞。

其他化学感受器　在舌的舌上皮发现了另一种重要的化学感受细胞。它们不必像嗅觉神经元那样分辨各种化学刺激。味觉感受器感受食物中作用于舌上的酸、甜、咸和苦味等。图 13-18a 显示了味蕾及其感受器细胞。与嗅觉细胞完全不同，味觉感受器没有轴突，但受传递味觉信息到脑中的传入神经支配。对刺激的感受发生在味蕾表面的指状突起或**微绒毛**（microvilli）内。图13-18b显示的是一些推测的味觉转导机制。酸味主要依赖酸性的化学刺激，咸味感觉是由高浓度的钠离子溶液引起的。有趣的是，对这些物质的效应可能并非通过特殊的膜受体。相反，酸味信息的转导可能是由细胞尖端区域



图 13-18 味觉转导。a：味蕾中味觉感受器细胞。b：转导不同味觉刺激的一些机制（改自 Kinnamon，1988）。

钾离子通道直接作用而产生。相似的，钠离子直接进入一种能被**阿米洛利**（amiloride）阻断的钠通道可导致咸味觉。另一方面，甜味和苦味可能是通过特殊的感受糖、氨基酸和其他化学性刺激的膜受体来转导的。尽管一些可能的转导机制在图 13-18b 中已有描

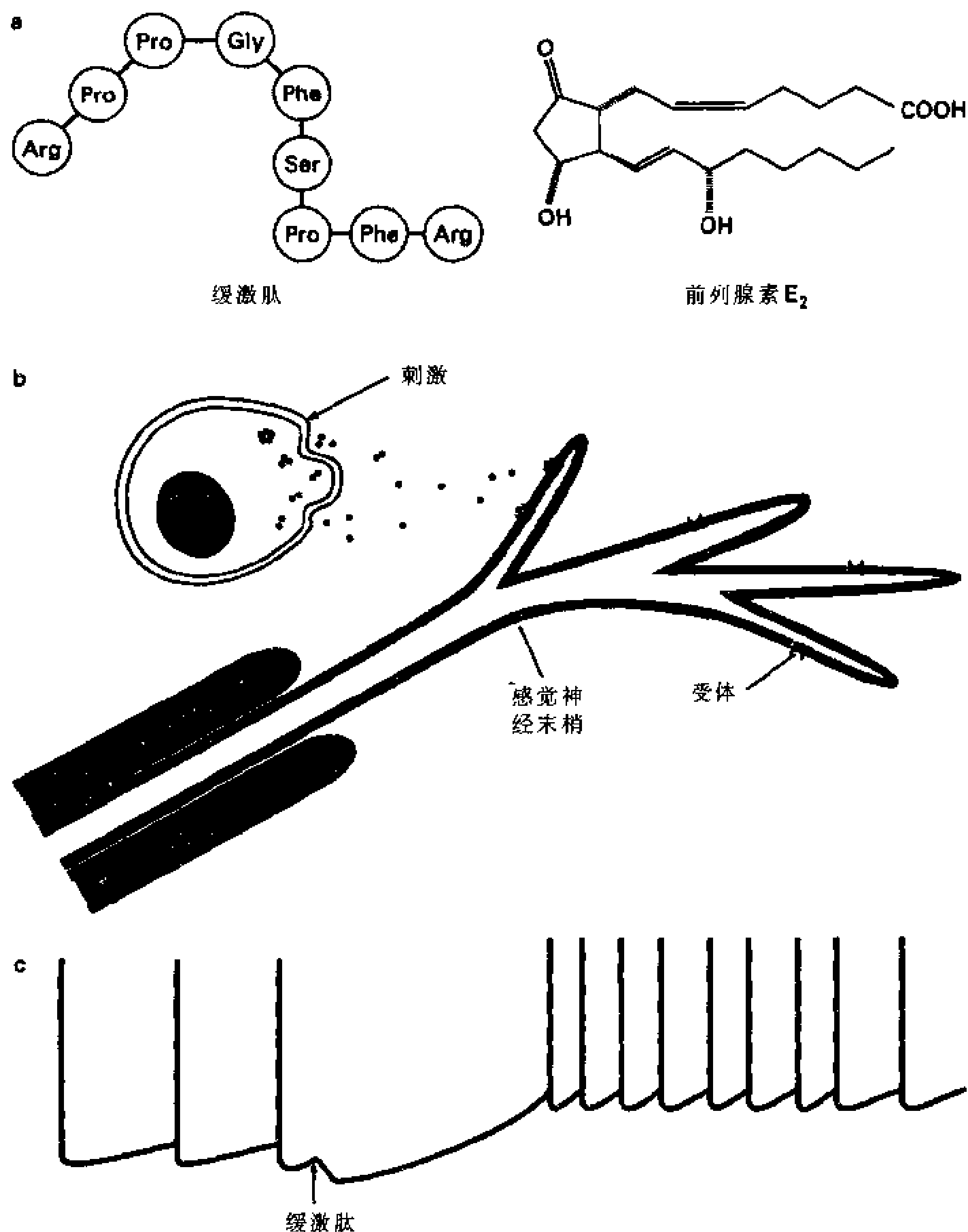


图 13-19　皮肤神经末梢的化学敏感性。a：缓激肽和一种前列腺素的结构。b：这些物质可能是由非神经元细胞释放，作用于局部神经末梢。c：缓激肽对杂交的成神经细胞瘤胶质瘤细胞（NG-108 细胞）的作用，M. Nirenberg、H. Higashida 及其同事已对这些作用进行了研究。

述，还可能存在其他感受味觉刺激的机制。

我们一定不要忘记，化学感受器不仅用来感受嗅觉和味觉；它们也传送各种体内液体中有关化学成份的信息。通常不把这种功能的大多数认为是感觉系统。然而，这里值得提出的一种特殊情况是，通常归因于触觉的化学敏感度的作用。昆虫咬伤引起的疼痛，或局部组织感染引起的疼痛，是由于刺激了皮肤的神经末梢。然而，多数这种效应

是间接的。刺激立刻引起皮肤中非神经元细胞释放活性物质。这些物质包括肽类如**缓激肽**（bradykinin）、脂质分子如花生四烯酸的代谢产物前列腺素（图 13-19a）。接着这些物质直接作用于感觉神经元（图 13-19b）。像我们前面描述过的皮肤机械性刺激感受器一样，这些神经元的细胞体位于背根神经节。图 13-19c 描述了缓激肽对一种肿瘤细胞的作用，尽管这种细胞并非真正的神经元，但看来它仍然具有对这些皮肤中局部释放物质的反应的神经元的许多特征。在这些细胞，缓激肽引起了短暂的超极化，随后是活跃的神经元放电，这是由于 PLC 第二信使通路的激活。这个过程中伴随着酪氨酸磷酸激酶对钾通道的调制。

小结

感觉细胞已进化形成使离子通道被外部刺激如运动、光或化学刺激所调节的通路。但是只在少数例子中，如在光感受器和嗅觉感受器中，其外部刺激转导的方式已了解得比较清楚。然而，感觉细胞看来是以一种与神经元处理来自突触前通路的信息相似的方式来处理信息。尤其是，在许多感觉细胞，刺激改变第二信使如环核苷酸的水平，进而开放或关闭胞浆膜上的离子通道。

感觉感受器的研究也揭示了在信号传递通路中的一些意想不到的曲折。直接由 cGMP 和 cAMP 开放的离子通道已在光感受器和嗅觉感受器被发现。一些听觉感受器对特定频率的声音刺激精确地调谐，而不仅仅是放大声波的振幅。这些机制看来有可能在感觉细胞首先被发现，因为神经科学家对这些告知我们外部世界的细胞有着浓厚的兴趣。进一步的探索也可能在非感觉神经元中发现一些这类机制。

第四篇

行为和可塑性

本书前两篇涉及神经元在细胞内和细胞间信息传递的机制。本书的最后部分将讨论**行为**（behavior），即神经系统的输出效应。我们也将涉及可塑性，即每个神经元性质的变化及它们中导致行为变化的连接类型变化。我们讨论可塑性将首先集中在**发育**（development）上，它是神经元性质发生快速及剧烈变化的时期。虽然贯穿本书的重点在成年神经元，我们从发育开始讨论，是因为许多发育可塑性的细胞和分子机制，也和成年神经元的可塑性有关。

第 14 章涉及神经系统发育的早期阶段，即神经元前体的**生长**（growth）和**存活**（survival），以及它们**分化**（differentiation）为成年的神经细胞。未成熟的神经元一旦开始伸展出轴突，轴突必须找到它到达突触靶区的途径，这常常要经过很长的距离。第 15 章总结了这种**寻路**（pathfinding）过程中的细胞外**黏附分子**（adhesion molecules）的作用。这种黏附分子在引导神经元突起通过细胞外基质，以及经过其他细胞表面时起着重要作用。特异的细胞表面分子也告诉神经元，当它们已经到达适合的突触靶区时停止迁移。第 16 章我们讨论了**突触发生**（synaptogenesis），当轴突到达适合的靶区时，形成复杂的化学性突触。在发育及成年时期，突触能继续形成及消除。因此，关于某些突触的**选择性维持**（selective maintenance）机制的内容也在本章中叙述。

第 17 章的主题是**中间连接神经元网络**（networks of interconnected neurons）产生行为的方式。本章详细分析了某些小群神经元能引起令人惊讶的复杂行为效应。这些分析使我们明了每个神经元是惟一能适应它们在网络中的作用，以及神经元的性质变化改变了网络的输出效应。基于生物学资料的**计算机模型**（computational models）能用于研究这些组成及进行定量预测，这些预测可用进一步的生物学实验来检验。最后，在第 18 章中我们用讨论**学习和记忆**（learning and memory）来结束本书。动物改进行为的能力是经验（学习）的结果，新行为的维持可长达动物的终身（记忆），动物行为的这些基本特征已经使科学家们着迷了许多年。我们对神经元性质和它们调节（见第 10 章到第 12 章）以及突触通路的选择性稳定化（见第 16 章）认识的最近进展，提供了对学习和记忆的细胞和分子机制的新见解。

14

神经元的生长、存活及分化

在神经系统的**发育**（development）阶段，出现神经元结构和连接的根本变化。未成熟的神经元受到化学及机械性因素的作用，使它们向神经系统的各个部位迁移，并向其他细胞伸展出轴突及树突，在建立最终的分支及连接类型前，和这些细胞形成或停止突触连接。关于神经元发育不同阶段的全部内容超过本书的范围，本书的重点是成年神经细胞的性质。但是，在成年动物中，神经元的**可塑性**（plasticity）研究可以利用发育时期活跃的机制，因为这个时期，神经元在结构和功能上发生很深的可塑性变化。而且，许多机制对维持成年动物神经元的形状及连接也同样有用。因此，我们提供了一个神经元正常发育过程的简短概括的说明。本章中我们将涉及决定某些被挑选的神经元群的存在和性质的因素。后面两章将包括轴突的生长和突触接触的形成。

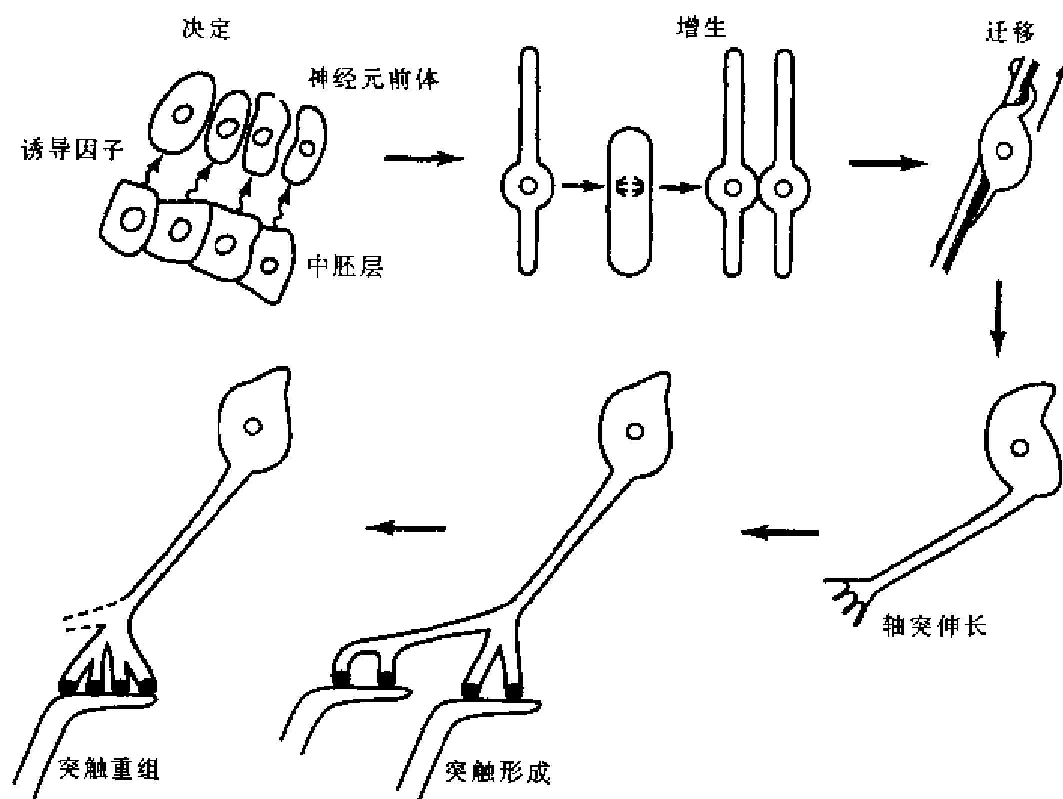


图 14-1 本章及后面两章中讨论的神经元发育的某些阶段。

细胞决定

在脊椎动物胚胎发育早期，存在三层细胞。将来决定要成为神经元的细胞位于最外层，称为**外胚层**（ectoderm）。紧靠外胚层下面的一层细胞称为**中胚层**（mesoderm）。神经元发育的第一步是外胚层中的细胞**决定**（determination）成为神经元前体。这个过程通常称为**神经诱导**（neural induction）（图 14-1）。在脊椎动物神经系统中，这可能是中胚层内邻近细胞释放的某些因子（可扩散的分子）作用的结果。经过该阶段后的外胚层细胞，只能发育成为神经元、胶质细胞、或少数其他类型的细胞。

未成熟细胞最终发展成为何种细胞类型取决于它在发育中的神经系统内的位置。在脊椎动物神经系统早期发育时，某些细胞特化形成和前脑或脊髓结构相适合的细胞类型。如果改变形成前脑结构细胞的特殊位置，例如，在发育时旋转 180°，可能导致最终在脑的较后部位形成不适合的前脑结构。这种特殊性可能也是由于中胚层细胞释放的因子造成的。这些因子的**梯度**（gradient）已被假设存在于发育的结构中。特定因子对细胞作用的量取决于细胞所处梯度的位置，这可能是发育过程中控制位置的一个途径。另外，和邻近细胞间的直接相互作用，也能诱导神经元向不同的发育途径发展。

细胞增生

在决定神经元前体各个细胞群发育命运的因子起作用的时期及以后，细胞开始分裂（图 14-1 中的增生）。在脊椎动物中枢神经系统发育时期，胚胎凹入到充满内液的脑室附近，该处的神经元前体细胞增生，称为**胚带**（germinal zone）。当细胞分裂时，发生一系列的形状变化，这些分裂细胞的特征和许多上皮细胞相似（图 14-2）。它们依次为：

(1) 细胞发出突起散布于胚带的全厚（G_1 相）。

(2) 当细胞合成 DNA 时，细胞核沿着突起从脑室移开（S 相）。

(3) 胞核沿着突起向脑室表面移回。

(4) 细胞突起缩回。

(5) 细胞分裂。

(6) 两个子细胞再伸出突起向胚带散布，开始另一个周期。

经过几次这样的循环后，细胞失去继续分裂能力，成为**后有丝分裂**（postmitotic）。或者迁移到另外的正在发育的神经系统区域，再经过几次分裂后才停止增殖。在脊椎动物神经系统中，一个经过最终分裂后成为神经元的未成熟细胞，称为**神经母细胞**（neuroblast）。这里有些语义上的混淆，在**无脊椎动物**（invertebrates），“神经母细胞”这个术语是用来描写能够增生的细胞，但它的**后代**（progeny）最终成为神经元。

细胞迁移

少数细胞在最终分裂后可能已经位于紧靠它们在神经系统的最终位置，但大部分细

胞要**迁移**（migration）适当距离后才能到达它们的最终目的地（图 14-1）。细胞在迁移过程中受到其他细胞（包括非神经元细胞）释放的因子的作用。看来这些因子除了和其他细胞直接的物理作用外，在决定这个细胞是否分化成为神经元、胶质细胞或者某些其

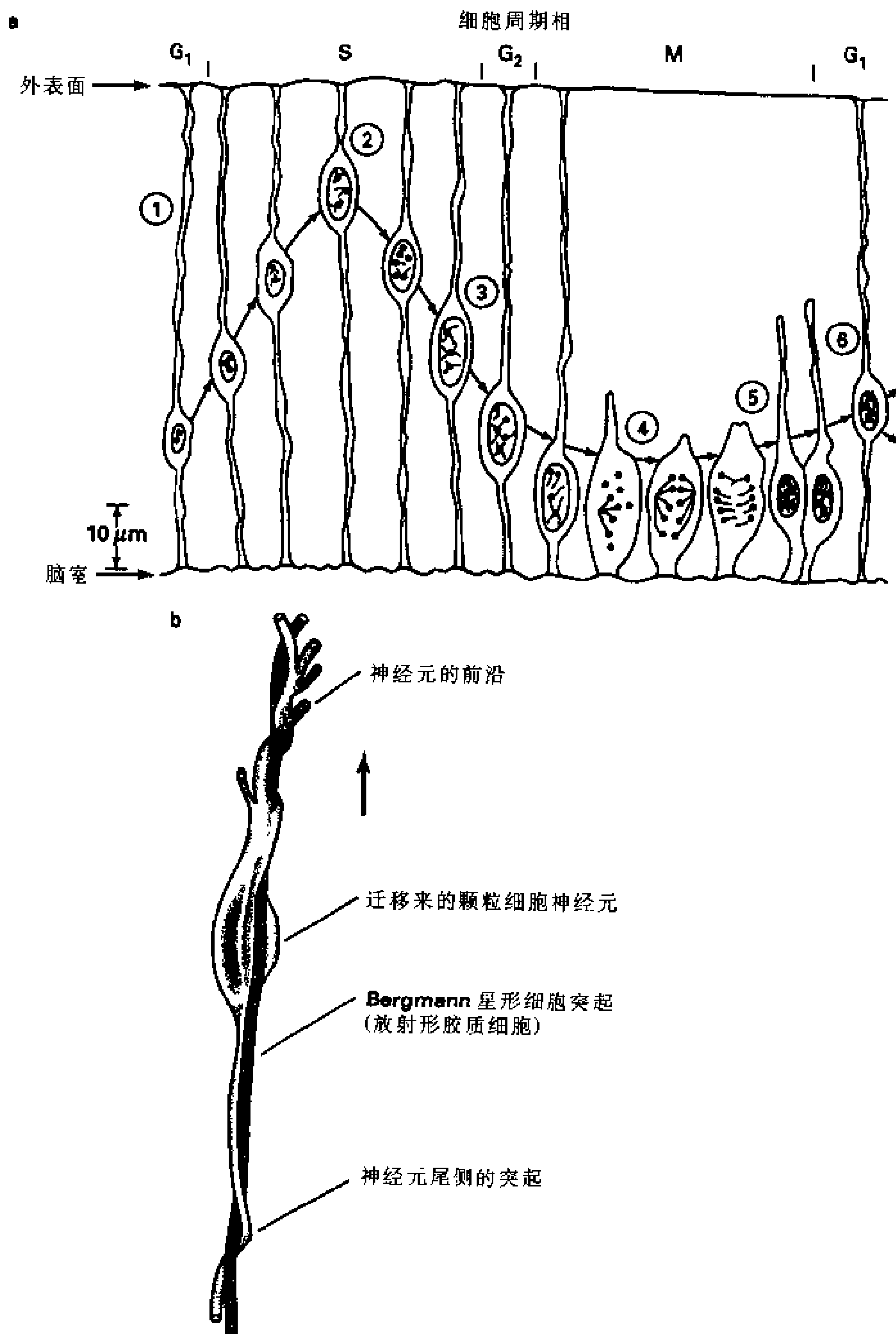


图 14-2 增生和迁移。a：增生时细胞核的运动（Jacobson，1978）。b：Pasco Rakic（1971）的解剖学研究显示小脑中的神经元沿着放射形胶质纤维迁移。

他类型的细胞中起关键作用。而且，如果一个细胞发育成为神经元，其他细胞释放的因子将影响它合成的神经递质类型，以及受体、离子通道和其他蛋白质的特殊混合物，这种物质将决定分化完全的神经元的性质。

在未成熟神经元迁移的时期，可见到另一类细胞和细胞间的相互作用决定细胞迁移的**方向**（direction）。这方面的一个明显的例子可见于胶质细胞和发育中的脊椎动物未成熟小脑**颗粒细胞神经元**（granule cell neurons）间的相互作用（图 14-2b）。有一类胶质细胞称为 **Bergmann 星形细胞**（Bergmann astrocytes），产生于发育小脑皮层的胚带中。它们分化成胶质细胞并伸出胞浆突起，跨过小脑皮层的全厚。这些放射形胶质纤维为随后的神经元从外表面（外颗粒层）向下迁移入发育中的小脑皮质提供了一条通路。沿着这些胶质纤维移动的细胞，最终在成熟的小脑皮质中形成一层颗粒细胞中间神经元。

发育期间的细胞死亡

完整的神经元数目可能仅在发育时期出现，有些神经元在稳定成熟的神经系统形成前即已死亡。在无脊椎动物例如水蛭、线虫及蚱蜢中，曾描述过如何通过细胞死亡去建立一个简单的神经系统的很好例子。例如，蚱蜢的神经系统是由沿着身体全长的一系列节段性神经节组成。这些神经节各不相同，所含神经元的数目也不同。在各个节段中，神经元最初的分裂形式是相似的，但后来，某个节段中“不需要”的细胞自然地死亡，只留下残留的细胞建立适当的连接型式。这种现象称为**程序性细胞死亡**（programmed cell death）。

脊椎动物神经系统发育时期，神经元也有死亡。在胚胎早期发育时，多达四分之三的神经元在到达特异的神经通路前可能死亡。在某些情况下，神经元的存活可能需要某种突触后或突触前靶区释放的可扩散的**营养因子**（trophic factor）作用。因而切除靶区，例如切除鸡胚的肢芽，会导致正常应该支配该肢体的感觉神经元的萎缩。相反，植入另外的肢体可部分地防止感觉神经节中细胞的丢失。在另一些情况下，一群神经元的存活可能依赖于在发育的关键时刻特异性因子的作用。

导致细胞出现程序性细胞死亡的因素仍有待研究。被称为**细胞凋亡**（apoptosis）的死亡过程和一系列特殊的生化反应有关。它不同于损伤时细胞死亡出现的反应。尤其是凋亡细胞的核和胞浆皱缩，细胞的 DNA 在特殊的位置断裂（图 14-3）。死亡细胞的碎片迅速被**胞噬作用**（phagocytosis）移去。胞噬作用的过程是这些碎片被邻近细胞或巨噬细胞、血细胞所吞噬，这些细胞的机能是移去这些碎片。**线虫**（*Caenorhabditis elegans*）中存在“死亡基因”编码的某些蛋白质的证据，加深了我们对细胞凋亡的深入理解。线虫的发育经过一个非常定型的选择性细胞死亡过程。这些基因的第一种称为 ***ced-3***，它编码一种蛋白酶，这种酶在死亡细胞的胞浆中被激活，结果破坏了细胞蛋白，使核崩解。哺乳动物的这种类似的酶称为**蛋白酶-白介素类似物-1β 转换酶**（protease-resembling interleukin-1β-converting enzyme，PrICE）。当细胞蛋白酶激活时可能启动细胞凋亡，还有一些蛋白质，它们的作用是防止程序性细胞死亡。这些蛋白质在线虫中被 ***ced-9*** 基因编码，在哺乳动物中被 ***Bcl-2*** 基因编码。当细胞浆中存在 Bcl-2 蛋白时，Bcl-2 蛋白能抑制细胞凋亡。这些不同的蛋白质必须互相作用以及被营养因子调节，这些营养因

子可决定生长中的神经元是存活还是死亡，这些方面还不很清楚。

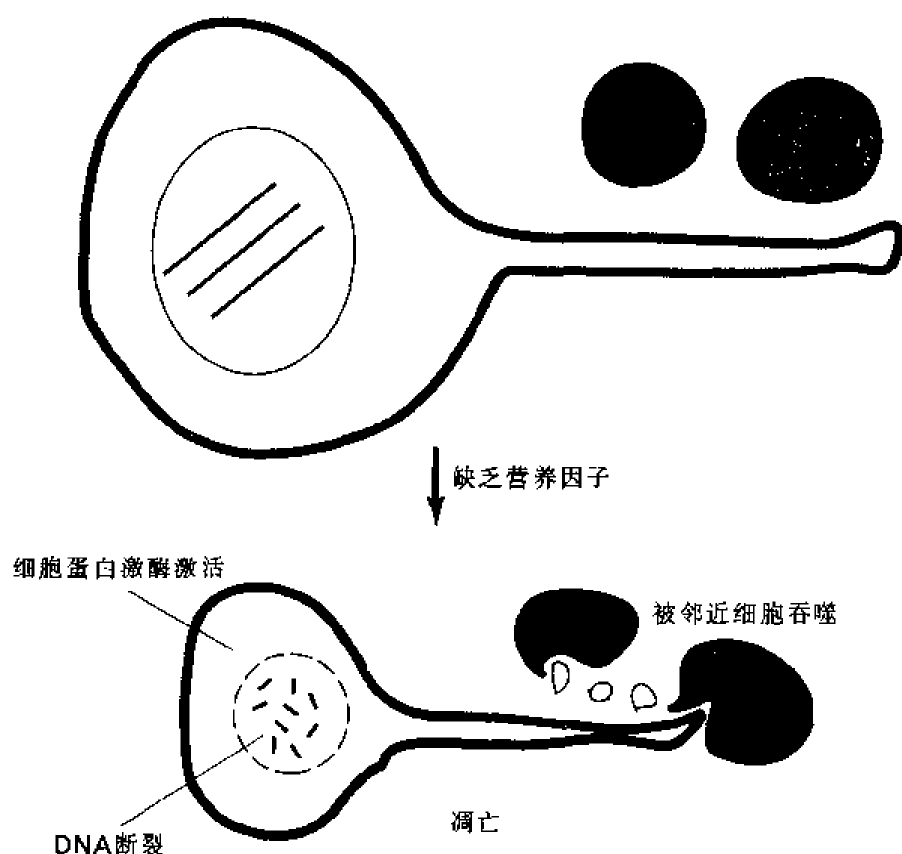


图 14-3 程序性细胞死亡。营养因子缺乏导致细胞蛋白质的蛋白水解，DNA 断裂，以及细胞碎片被邻近细胞移走。

肽生长因子和有关分子

说得保守点，我们仅仅是开始理解信号的多样性，这种信号决定是否一个细胞将分化成为神经元，是否在发育完全前存活或死亡。许多非神经细胞的研究已经证明存在一些肽分子，它们能刺激细胞分裂，因而被称为**生长因子**（growth factor）。现在看来，和生长因子有关的分子家族以及它们的**酪氨酸激酶受体**（tyrosine kinase receptors），在决定神经元发育的结果上起着重要的作用。尤其是一群称为**神经营养素**（neurotrophins）的蛋白质家族，对神经元在发育时的存活以及成年神经元的维持是很重要的。这些因子中首先被发现并了解最彻底的是**神经生长因子**（nerve growth factor, NGF）。

神经生长因子 Bueker E 在 1948 年的实验首先提示存在着神经生长因子（nerve growth factor, NGF）。他证明如果将肌瘤植入到胚胎的体壁中，肌瘤被沿着脊髓的感觉和交感神经节的神经元支配。在神经支配的同时，投射到肌瘤的神经节明显增大。Rita Levi-Montalcini 和 Victor Hamburger 随后的实验证明存在着促进这些神经节中神经元生

长的可溶性物质。为了鉴定这些物质，Levi-Montalcini 发展了一种简单的生物学测定法。她将一小片含有感觉神经元或交感神经元的组织放入培养皿中，于是发现来自肌瘤的细胞非常剧烈地刺激**神经突起**（neuritic）从外植物向外生长（图 14-4a）。［术语**神经突起**（neuritic），或**神经突起分支**（neuritic branch）用于描写或者是轴突或者是树突的突起是有用的，尤其在生长中的突起尚未确定是否为轴突还是树突时特别有用］。

Levi-Montalcini 和 Stanley Cohen 以后的实验发现，除了肌瘤外其他的组织也能提供神经突起诱导因子。Cohen 试图鉴定 NGF 的分子性质，处理了带蛇毒因子的粗制品，蛇毒含有磷酸二酯酶，能降解核酸但不影响蛋白质。令人惊异的是蛇毒本身也能激活诱导神经突起生长，以后表明它含有大量的 NGF。小鼠的颌下腺在解剖学上和分泌蛇毒的蛇腺类似，发现也含有非常丰富的 NGF。颌下腺终于成为纯化 NGF 蛋白质的来源。

NGF 的结构　正如我们下面将要描述的那样，NGF 是一个由三种不同类型的蛋白质组成的复合物。然而，它对交感神经和感觉神经元残基的生物学活性，完全取决于两个相同的、分子质量各为 13259 的肽链复合物（图 14-4b）。这个同型二聚体称为 NGF 的 β 亚单位。虽然 β 亚单位只有一个基因，从这个基因转录的 RNA 可能用四个不同的方法衔接，产生四个不同种类的 mRNA。这些 mRNA 产生的蛋白质差别可多达 20 个氨基酸。不同的组织选用不同的拼接，这样不同组织的 β 亚单位的精确结构就各不相同。

小鼠颌下腺的 NGF 以三个不同蛋白质的复合体存在，其中 β 亚单位和两个 α 亚单位及两个 γ 亚单位联合（图 14-4b）。（这个大复合物具有 7 个 Svedberg（S）单位的沉降系数[1)]，因此有时称为 7S NGF，和只有 β 亚单位的被称为 2.5 S 的 NGF 不同）。γ 亚单位是一些肽酶，可能在 β 亚单位成熟的形成中起作用。β 亚单位是从较大的前体蛋白中分离出来的。α 亚单位的作用不明。也不知道是否在所有已测出 β 亚单位生物学活性的组织中，NGF 都作为这样的三蛋白质复合物存在。

在不同组织中直接测量 NGF 的水平，以及用 DNA 探针去探测 β 亚单位的 mRNA 编码，已经表明交感神经元支配的各种组织，以低速率合成 NGF。小鼠唾液腺及唾液中 NGF 异常高水平的原因尚不清楚。当神经损伤时 NGF 水平也出现升高，可能是由施万（Schwann）细胞合成的结果。

发育时期 NGF 的作用　虽然名为神经生长因子，但 NGF 不是真正的生长因子。它看来不能引起神经元或其前体细胞的有丝分裂。但是，NGF 和其他后面将要讨论的神经营养素，对神经元的存活、形成及活动有深刻的影响。神经营养素的某些不同的作用列于表 14-1 中。因此，毫无疑问的是 NGF 在交感神经元的正常发育及成年动物的维持中起作用。例如，注射 NGF 抗体到小鼠胚胎或新生小鼠，结果交感神经系统被完全消除。注射其他生长因子的抗血清没有这种特异作用。老年动物重复注射抗 NGF 抗血清，使 NGF 生物学活性丧失，也出现交感神经系统破坏。虽然比胚胎或新生动物需要

---

1) Svedberg unit：Svedberg 单位，表示沉降系数的单位，符号为 S。沉降系数表明粒子在超速离心时的沉降速率。一个 S 单位等于 10^{-13} 秒的沉降系数。S 值可以表示细胞颗粒的大小和大分子的相对分子质量。——译者注

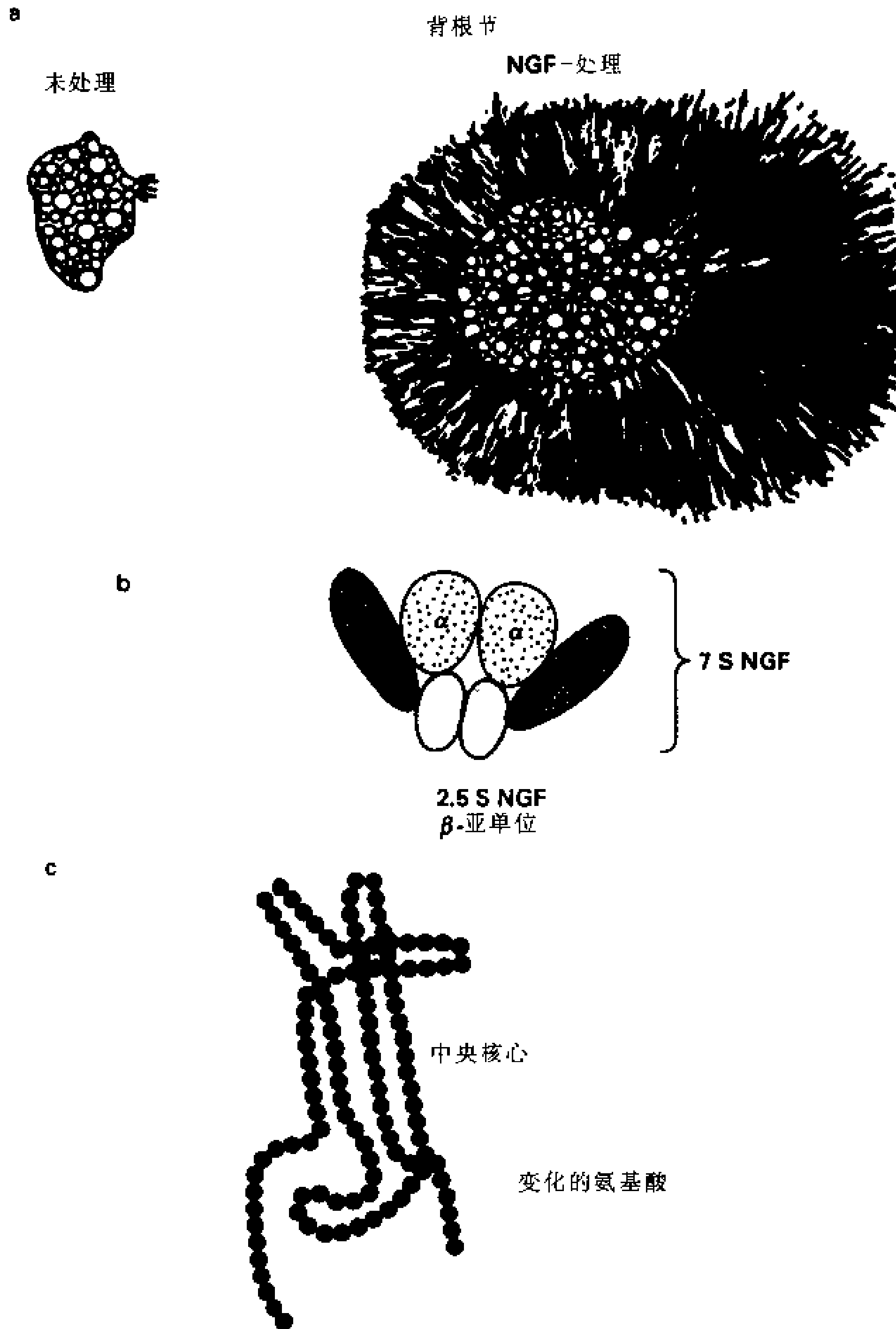


图 14-4　神经生长因子（NGF）。a：NGF 诱导感觉神经节神经突起生长。b：7S NGF 的结构。c：结构研究确定 NGF 的 β 亚单位具有一个中央核心及外周攀区。显示 β-NGF 肽链的结构，和其它神经营养素区别最大的氨基酸用红色显示。

更长的注射时间。反之，将 NGF 本身注射到未成年动物内，引起交感神经节的增大。在感觉神经元上通常也能获得类似的结果，虽然仅在胚胎发育早期应用 NGF 抗血清时，才能导致感觉神经元的丧失。

在这些实验的基础上提出的假说认为，最终受交感或感觉神经元支配的靶细胞提供

了 NGF，保证它们的突触传入的存活。NGF 可能抑制了通常使这些细胞成分应该死亡的机制。同时，可以设想，产生 NGF 来源的部位也可能在交感神经发育时对轴突生长的方向性提供了一个化学性信号。事实上，在分离的培养细胞以及在整体的神经系统实验中，已经证明神经突起将向 NGF 梯度高的方向生长。但是，用 cDNA 探针测定发育期间 NGF mRNA 含量的研究表明，只有在交感神经元轴突到达它们的靶区以后，NGF 才开始合成，此时才开始对 NGF 产生存活的依赖性。因此，NGF 梯度在发育期间不大可能引导神经突起的生长。

表 14-1　神经营养素的作用

神经元存活	防止神经元死亡
神经生长	刺激轴突和树突生长
神经出芽	刺激成年神经元的轴突和树突出芽
合成代谢作用	增加神经元胞体的大小
分化	合成神经元显型需要的蛋白质
调节传递	增加神经递质、神经肽及其合成酶的合成
电特性	改变离子通道的活动和水平

仅有少部分细胞对 NGF 反应　虽然交感和感觉神经元是对 NGF 敏感的主要神经元类型，少量其他类型的神经元也对这个因子有反应。例如，在隔区的一群胆碱能神经元投射到海马。如果切断这些神经元的轴突，正常时这些细胞将死亡。应用 NGF 能防止这些胆碱能神经元死亡，但不影响隔区中其他神经元的存活。NGF 也作用于某些非神经元细胞，例如肾上腺髓质的嗜铬细胞，用 NGF 处理时能合成儿茶酚胺，并使神经突起生长。

BDNF 及其他神经营养素　如上所述，NGF 促进感觉神经元在发育早期的存活，但随着细胞的成熟，NGF 失去作用。用脑提取液处理感觉神经元可延长其存活时间。当纯化这些具有更长营养作用的成分时，发现其结构和 NGF 非常相似，命名为**脑源性神经营养因子**（brain-derived neurotrophic factor，**BDNF**）。分子克隆发现这个神经营养素家族还有其他几个密切相关的成员。已被命名为 NT-3，NT-4/5 及 NT-6。NT-4/5 这一古怪的名称源自第四和第五个神经营养素的发现，它们实际上是从不同物种分离出来的同一种营养因子。这些分子每个都有一个和 β-NGF 非常相似的中央核心区，但它们氨基和羧基末端攀区的结构彼此互不相同（图 14-4c）。

和 NGF 仅作用于少数类型的神经元不同，其他的神经营养素在脑中分布广泛，包括分布在神经元和胶质细胞，以及周围组织例如肌肉中。与此相应，它们能促进很大范围的神经元存活，包括许多运动神经元和其他中枢神经元，例如黑质的多巴胺神经元（见图 9-6）。

神经营养素的 Trk 受体

NGF 及其他神经营养素通过跨越胞浆膜上的两类受体对神经元起作用，即 Trk 受体和一种 p75 的糖蛋白（图 14-5）。不同神经营养素作用的特异性是由于 Trk 蛋白的作用所致，它形成同型二聚体，它的细胞外结构域构成和神经营养素紧密结合的部位。这些受体的细胞内部含有一种酶的活性即**酪氨酸激酶**（tyrosine kinase）。当 NGF 或其他神经营养素和 Trk 受体结合时，酪氨酸激酶的活性被激活，产生受体分子的自动磷酸化过程。引起每个激活的激酶结构域从 ATP 转移到 Trk 受体另一个链的酪氨酸残基。这种链移动的过程描述如下。

已知存在三种 Trk 蛋白，称为 **TrkA**，**TrkB** 和 **TrkC**（图 14-5）。NGF 的作用特殊，经由 TrkA 介导。因此，TrkA 受体仅在少数类型神经元上发现，主要是交感和感觉神经元，以及少量的脑内神经元。相反，TrkB 和 TrkC 两者在大多数神经元上都能见到。TrkB 结合 BDNF 和 NT-4/5，而 NT-3 主要通过 TrkC 作用。然而，少数交叉反应（cross-talk）可能在一个神经营养素和另一个神经营养素的受体上出现。

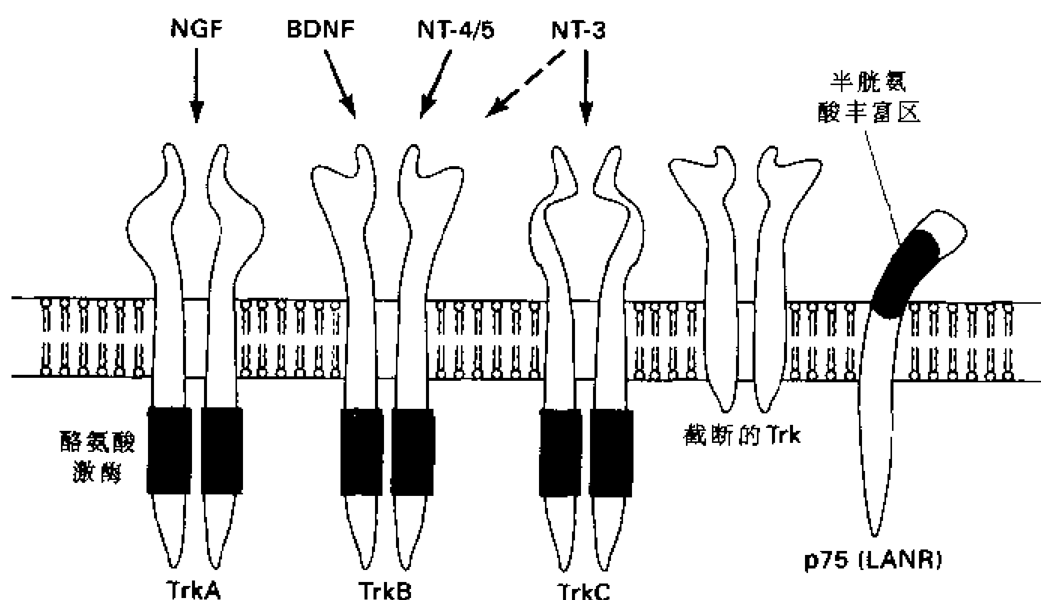


图 14-5 神经营养素受体。神经营养素（例如 NGF）和全长及截断形式的 Trk 受体，以及低亲和神经营养素受体 p75 结合。不同的神经营养素和其 Trk 受体间有某些交叉反应。

TrkB 和 TrkC 两者均有全长和截断两种形式。改变 mRNA 的拼接（图 6-10），TrkB 和 TrkC 基因产生这些受体的截断形式，这些受体省去细胞内的激酶结构域（图 14-5）。酪氨酸激酶受体的截断形式和那些仅在神经元中见到的全长形式不同，它们主要存在于非神经元细胞，例如星形细胞和少突胶质细胞中。这些截断形式受体的作用还不清楚，但可能是使神经营养素胶质从细胞外吸收机制的一部分，因而控制这些因子的局部浓度。

第二个所有神经营养素都能与之结合的膜蛋白为 **p75**，有时称为**低亲和力神经营养**

素受体（low-affinity neurotrophin receptor，**LANR**）（图 14-5）。这个蛋白和 Trk 蛋白的结构无关，它是另一个受体家族即**肿瘤坏死因子**（tumor necrosis factor，**TNF**）受体的成员。p75 本身不能介导任何 NGF 或其他神经营养素的作用，然而它的存在可能增强 TrkA 的信号通路，因而可能对 NGF 的某些作用是重要的。例如，在某些去除 p75 基因的动物，需要比正常浓度高得多的 NGF 才能保证交感神经元的存活。而且，这些动物的感觉神经元比正常动物要少，许多交感神经元的轴突不能到达它们正常的靶区。

神经营养素的信号传导通路　神经营养素的作用是如此不同，因此它们必须具有不同的信号传导通路。它们的某些作用是迅速和非常局部的。例如，对感觉神经元局部应用 NGF，产生对神经突起的形态学影响在 30 秒内出现，并局限在应用的局部范围内（见第 16 章）。然而查看一下表 14-1 就可发现，许多神经营养素的作用，引起效应的速度并不快，需要经过神经元合成特殊蛋白质的过程。这需轴突终末遇到神经营养素，并将信号送回到细胞体，在细胞**体**内将基因转录并合成蛋白。在这个过程中似乎神经营养素被胞饮内在化，然后被逆行运输回细胞体（图 14-6）。

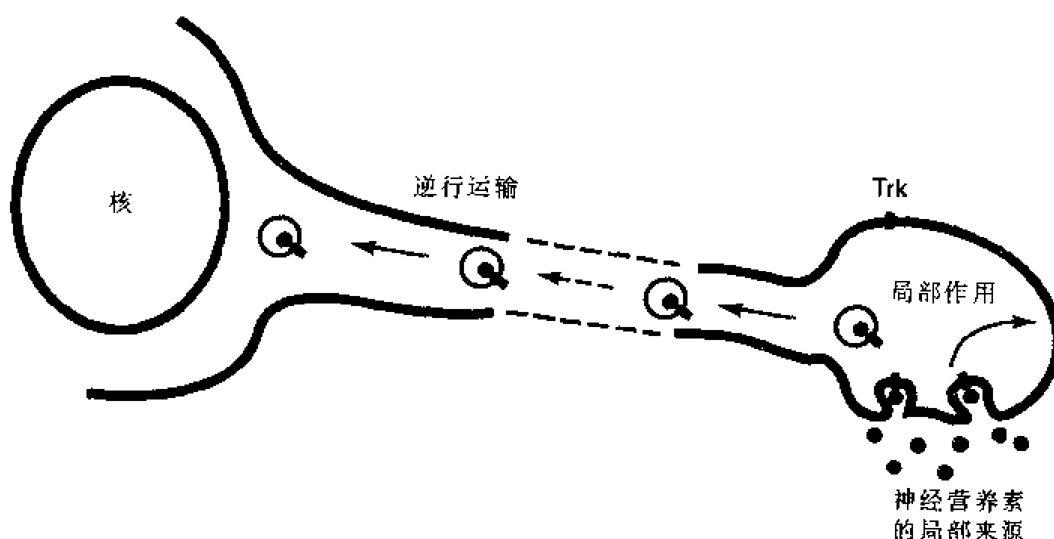


图 14-6　神经营养素作用部位。神经营养素和胞浆膜中 Trk 受体结合后，能作用于局部，或能被逆行运输送回细胞核。

神经营养素（例如 NGF）和它的受**体**结合后，产生许多对神经突起生长及基因转录的继发效应，涉及一个叫 Ras 的蛋白质。Ras 蛋白是一个 21 kDa 的磷酸化蛋白，它和 GTP 结合，和其他的 GTP 结合蛋白，例如 Rab 蛋白（见第 7 章）和 G 蛋白 α 亚单位是同类物质，它们和神经递质受**体**结合形成第二信使（见第 11 章）。Ras 可见于多数真核细胞中，并第一次作为被原癌基因编码的蛋白质被发现（原癌基因更详细的讨论见第 16 章）。当 Ras 蛋白被激活，产生一系列涉及蛋白激酶链相继激活的连锁反应。

TrkA 受体激活 Ras 的通路可见图 14-7a。当 TrkA 受体和 NGF 结合时，受体二聚**体化**，结果每条肽链的细胞内激酶磷酸化另一条肽链上的特殊酪氨酸残基。一旦磷酸化

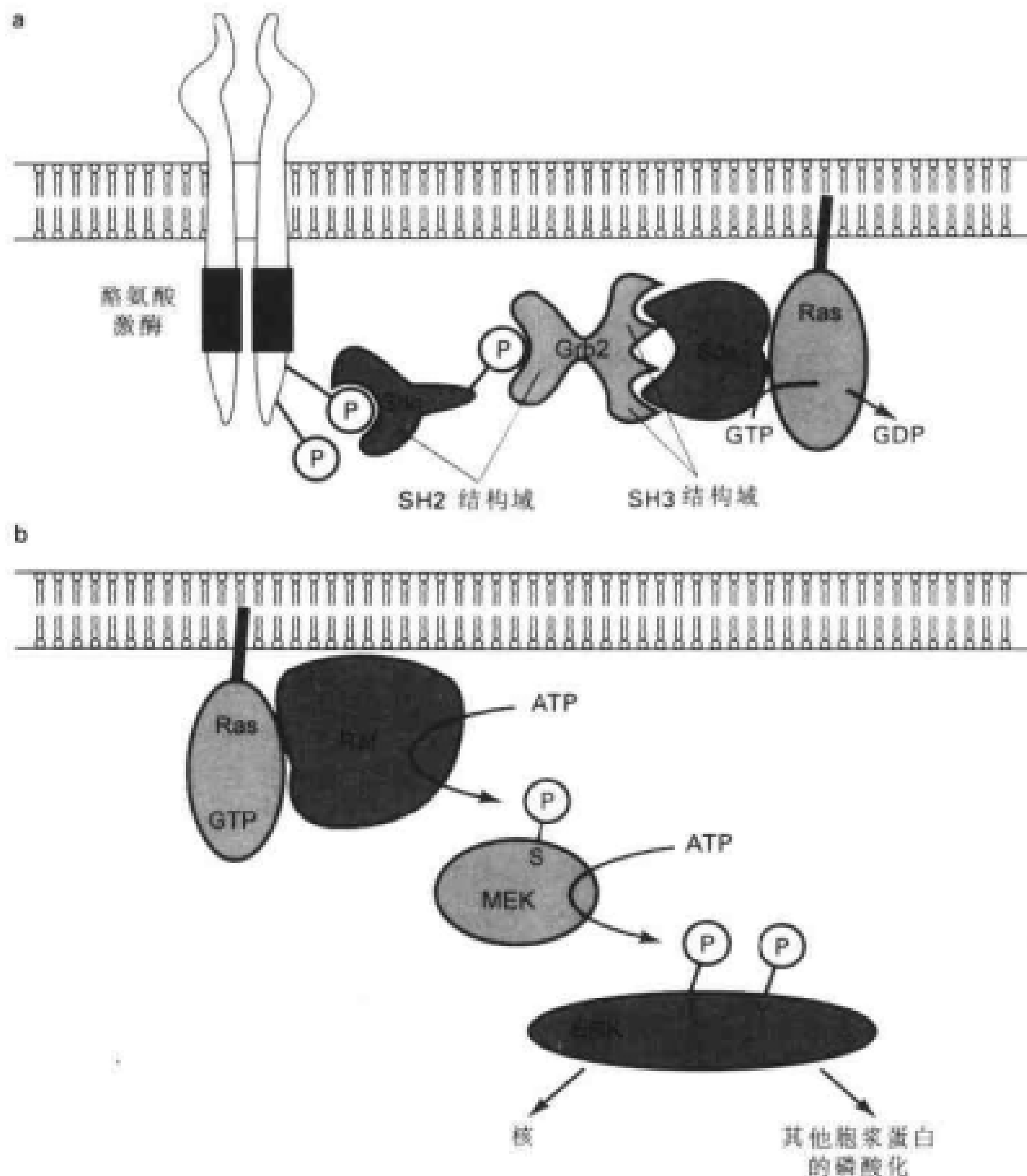


图 14-7 Ras/Raf/MEK/ERK 通路。a：连接 Trk 受体活动到 Ras 蛋白上 GTP 交换为 GDP 的通路。b：在 GTP——结合形式中，Ras 向胞浆膜补充 Raf 激酶，并激发一系列的磷酸化反应，包括 MEK 和 ERK 的磷酸化。

后，这些酪氨酸作为一个含有 **SH2 结构域**[1]（SH2 domains）的蛋白质附着点（作为 Src 的类似物 2，Src Homology 2，因为 Src 蛋白激酶是发现含有这些结构域的第一个蛋白）。这样的结构域可见于许多信号蛋白中，它们的机能为简单地和磷酸酪氨酸结合。其中一个和 TrkA 受体上的磷酸酪氨酸结合并含有 SH2 结构域的蛋白，称为 **Shc 蛋白**（Shc protein），它在和 TrkA 受体结合后被受体磷酸化（图 14-7a）。

1）结构域：酶分子或调节性蛋白的调节区域。通过该区域与相对应的调节分子结合可以起到调节酶或蛋白质活性的作用。——译者注

Shc 蛋白作为受体和 Ras 蛋白相连接的桥的第一部分，桥的第二部分为一个“适配器”蛋白叫 Grb2。这个适配器本身含有一个 SH2 结构域，它允许适配器和酪氨酸磷酸化的 Shc 蛋白结合。Grb2 也含有两个 **SH3 结构域**（SH3 domains）。像 SH2 结构域那样，SH3 结构域允许信号分子彼此互相连接。然而，SH3 结构域不和磷酸酪氨酸结合，它能识别含脯氨酸和某些疏水氨基酸残基的特殊氨基酸序列。Grb2 上的 SH3 结构域和这个适配器结合到桥的第三部分，即 **Sos 蛋白**（sevenless 的子代，此名称的意义将在本章后面说清楚）。

Sos 在胞浆膜的内面结合到 Grb2，形成最后的连接，使 Sos 和 Ras 接触。Sos 蛋白促进 Ras 上 GDP 和 GTP 交换，因此使 Ras 处于活动状态。Ras 分子于是以 Raf 激酶活动开始，导致一系列的蛋白激酶反应。

从 Ras 到 Raf 到 MEK 到 ERK　　像某些其他 GTP 结合蛋白一样，Ras 是通过脂质尾连接到膜上（见第 11 章）。在它的 GTP 结合状态，Ras 从细胞浆到细胞膜补充了一个称为 Raf 激酶的蛋白激酶。当 Raf 移动到胞浆膜时，Raf 被激活并磷酸化另一个在丝氨酸残基上的蛋白激酶，叫做**有丝分裂原激活的激酶**（mitogen-activated kinase, **MEK**），因而激活第二个激酶（图 14-7b）。**MEK** 是蛋白激酶中的特殊者，它能增加磷酸到丝氨酸/苏氨酸以及酪氨酸残基上。反过来被激活的 MEK 酶也磷酸化另一个蛋白激酶，叫**细胞外反应激酶**（extracellular response kinase, **ERK**，有时也叫 Mitogen-Activated Protein Kinase，MAPK）。这种磷酸化出现在苏氨酸及酪氨酸残基。在了解激酶的级联反应后，才能理解神经营养因子作用的多样性。除了磷酸化多种细胞蛋白，激活的 ERK 酶也进入细胞核，在核内起**转录因子**（transcription factor）的作用，改变特异蛋白 mRNA 的合成速率（见第 16 章）。

PC12 细胞及 NGF 作用的机制　　虽然 NGF 仅仅作用于神经系统部分种类的神经元，但有一种细胞株对研究被神经营养素激活的信号通路特别有用，即 PC12 细胞。PC12 细胞来源于一种肾上腺嗜铬细胞肿瘤，叫做**嗜铬细胞瘤**（pheochromocytoma）。嗜铬细胞如同交感神经元和感觉神经元一样，起源于**神经嵴**（neural crest）（见下），PC12 细胞的细胞浆膜上有 TrkA 和 p75 受体。用 NGF 处理的 PC12 细胞可刺激神经突起的生长。NGF 的作用涉及 Ras/Raf/MEK/ERK 通路的证明，来自用 Ras 的突变形式减少 GTP 的水化能力的实验。和其他 G 蛋白亚单位类似，这种 Ras 突变蛋白将被慢性激活。事实上将这种 Ras 突变蛋白直接注射到 PC12 细胞的胞浆内引起的形态学变化，和 NGF 引起的变化类似（图 14-8）。注射不突变的 Ras 就不被激活，因此正常的 Ras 蛋白不产生这样的作用。注射抗正常 Ras 蛋白的抗体会阻断 NGF 对 PC12 细胞的作用。

作用于 Ras 后续作用的激酶也能引起 PC12 细胞神经突起的生长。例如，把编码 Raf 激酶的 DNA 插入反转录病毒基因组，可将激活形式的 Raf 激酶引入这些细胞。当感染这种反转录病毒时，细胞开始合成激活的 Raf 激酶，使突起生长，模拟 NGF 的作用。注射突变 MEK 酶编码的 DNA 也能获得类似的结果，这种 MEK 酶在非磷酸化时也具有活性（图 14-8）。甚至可能形成另一种形式的突变 MEK，它不具活性，但和正常细胞 Raf 激酶竞争，阻断信号传递。注射这种抑制性 MEK 编码的 DNA，能阻止 NGF

对神经突起的生长作用。

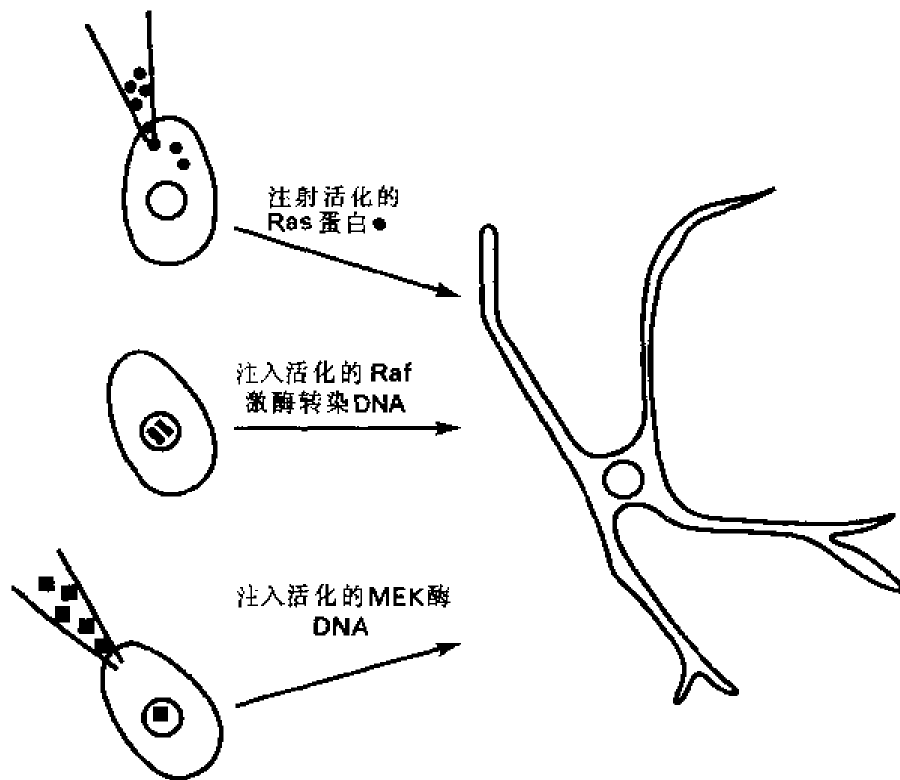


图 14-8 Ras/Raf/MEK 通路在神经突起生长中的作用。注射活化的 Ras 蛋白，或注入活化的 Raf 酶 DNA，或注入活化的 MEK 酶 DNA，导致 PC12 细胞内合成活化蛋白质，使神经突起生长。

这些以及其他有关的实验提示，Ras/Raf/MEK/ERK 通路在神经营养素的作用中是一个关键的部分。然而，这不是 Trk 受体激活的惟一信号通路，当缺乏活化的 Ras 蛋白时，NGF 在特殊蛋白质水平以及 PC12 细胞转录因子的水平上也可能起某些作用。这很可能是由于神经营养素与受体的结合，激活了 Ras/Raf/MEK/ERK 通路以外的信号通路。Trk 受体的磷酸酪氨酸（phosphotyrosine）可能起到其他信号分子的许多作用。例如，磷脂酶 C（phospholipase C）的酶的形式称为 **PLCγ**，通过它的 SH2 结构域被补充到激活的 Trk 受体上。这个酶再被酪氨酸磷酸化激活，结果形成其他第二信使，这将在第 11 章中讨论。

其他营养性分子

除了神经营养素外，还有些其他结构上和神经营养素家族无关的分子，它对许多类型的神经元的存活是必需的，对它们的靶细胞起类似的营养作用。这些分子中的一种为**睫状节神经营养因子**（cilitary neurotrophic factor，**CNTF**），首次把 CNTF 描述为营养因子是因为它是鸡睫状节神经元的存活所必需的因子，也是对许多其他类型神经元存活有效的因子。CNTF 在细胞表面结合一个叫 **CNTFα 受体蛋白**（CNTFRα），它和其他两个蛋白：**白血病抑制因子受体 β**（leukemia inhibitory factor receptor β，**LIFGβ**）和 **gp130**，

形成一个复合物（图 14-9）。这个受体复合物本身不是酪氨酸激酶受体，但被 CNTF 激活后，通过和叫做 **JAK 激酶**的酪氨酸激酶家族联合，引发一系列信号传递链反应。

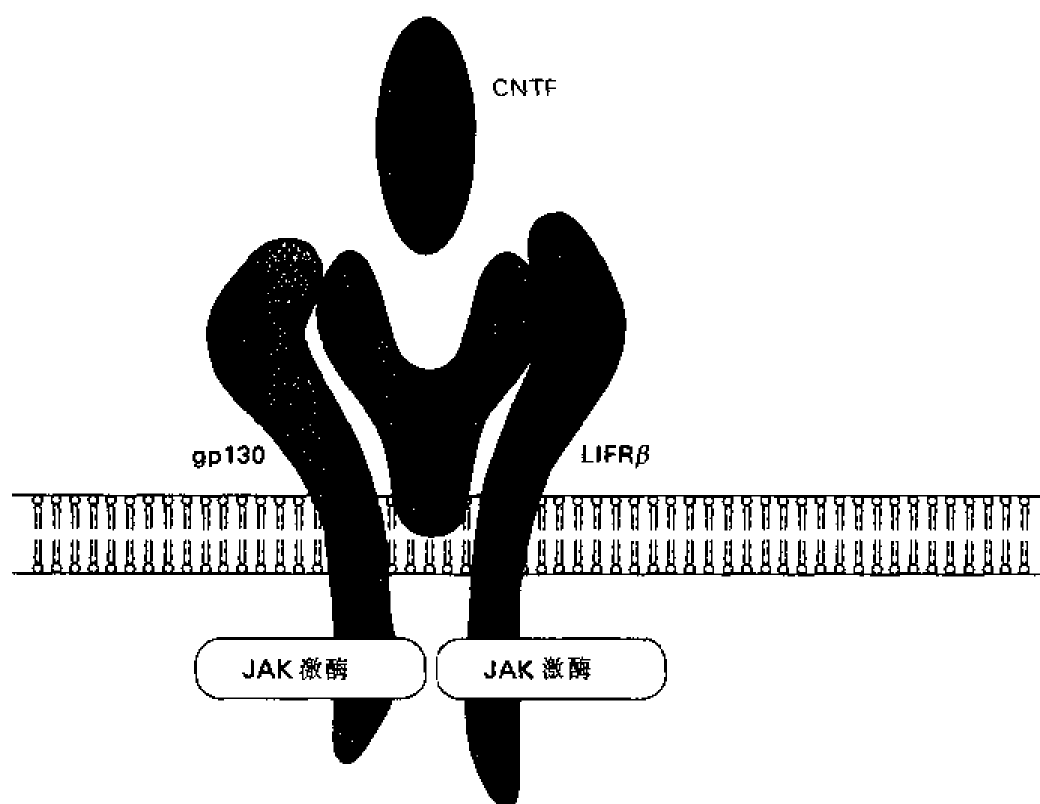


图 14-9 CNTF 受体。该受体为三个蛋白质的复合物，当它和 CNTF 结合时，激活胞浆中的酪氨酸激酶。

另一个促进运动神经元和其他神经元（例如中枢神经的多巴胺神经元等）存活的因子为**胶质细胞源性神经营养因子**（glial-cell-line-derived neurotrophic factor, **GDNF**）。GDNF 通过二硫键连接的两个糖蛋白，组成约 40 kDa 的二聚体，它是叫做**转换生长因子 β**（transforming growth factor β, **TGFβ**）的非神经元生长因子家族的远亲。

这些神经营养分子的被发现是因为它们能防止不同类型的神经元死亡。除了这些神经营养因子分子外，还存在其他一些能刺激非神经元细胞分裂的真正生长因子，许多这样的分子及其受体存在于神经元和胶质细胞或神经元的周围靶区中。当应用于神经元时，发现它们有许多营养作用，列于表 14-1 中。这些因子中有**酸性纤维母细胞生长因子**（acidic fibroblast growth factor, **aFGF**），它存在于运动神经元中，**碱性纤维母细胞生长因子** basic fibroblast growth factor, **bFGF**），它存在于运动神经元胞体周围的星形胶质细胞中（图 14-10）。这些分子的受体位于运动神经元的表面，这两种物质有助于培养中分离运动神经元的存活。另一个例子为**胰岛素样生长因子-1**（insulin-like growth factor-1, **IGF-1**），它能刺激轴突的发芽（见第 15 章）。

两种营养因子比一种营养因子好　从 NGF 的发现产生一个单纯的概念，即神经元的正常靶区提供神经元存活必需的因子。这个概念必须修正，因为某些其他的因子对

神经元也具有营养作用。例如，BDNF 和 CNTF 两者均能促进胚胎运动神经元的存活。BDNF 位于靶区肌肉，可能是真正的靶源性因子。另一方面，CNTF 位于形成髓鞘的施万细胞中，围绕运动神经元的轴突（图 14-10）。这两种因子对运动神经元的正常维持可能是必需的。例如在一种叫做 wobbler 突变种的小鼠上，通常患有进行性运动神经元缺失，应用两种因子使全部运动神经元能存活，而应用其中任何一种因子只能产生部分作用。

作为靶源性营养因子的 BDNF 和其他神经营养素，在细胞死亡出现前的发育期间，由神经元靶区产生。因此，受到 BDNF 及其他营养因子作用的运动神经元能存活下来。相反，当髓鞘形成时 CNTF 才开始在施万细胞合成，正好在出现细胞死亡时期之后。只有在这个时期以后出现的神经元才依赖 CNTF 存活。这个事实容易在 CNTF 基因被除去的突变小鼠上观察到。这种动物的运动神经元能正常发育到髓鞘形成的时候，此后随着动物的发育成熟，这些细胞的胞体出现进行性的缩小，随后部分运动神经元相继死亡。

除了 CNTF，还有其他的营养因子不是存在于这些神经元正常的靶区中。如上所述，aFGF 和 bFGF 两者均作用于运动神经元，它们的作用可能和其他因子的作用起协同增效的作用。例如，bFGF 位于运动神经元胞体附近的星形胶质细胞中，具有**旁分泌**（paracrine，即可能作用于附近的细胞）作用模式。另一方面，aFGF 存在于运动神经元本身，因而可能为**自分泌**（autocrine）因子（它可能作用于释放因子的同一个细胞）（图 14-10）。

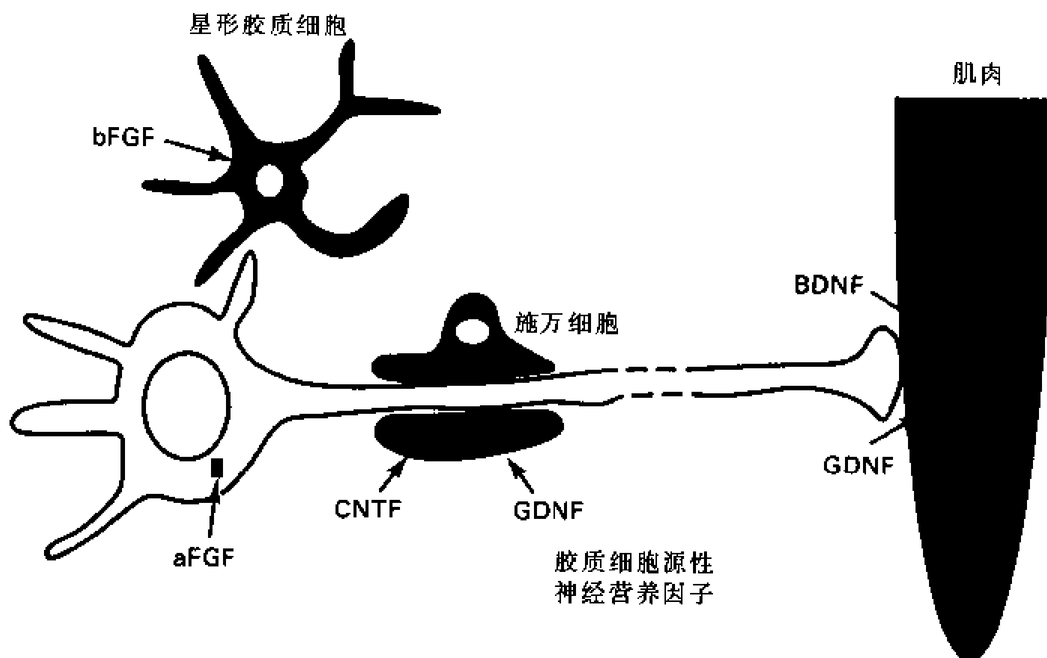


图 14-10 运动神经元的营养因子。营养分子的重要来源为胶质细胞及支配的肌肉（改自 Nishi，1994）。

仍有待解答的问题之一是运动神经元何时及怎样被这些因子作用。神经营养素看来是典型的分泌蛋白，它由肌细胞及其他神经靶区释放。反之，施万细胞中的 CNTF，星

形胶质细胞中的 bFGF，以及神经元中的 aFGF 为胞浆蛋白，没有正常分泌作用的信号序列（见第 7 章）。因此这些因子必定以不常见的机制对运动神经元起作用。

因为营养因子的重要性，营养因子或它的受体的基因敲除将严重影响发育。在某些例子确实如此，消除营养因子或它的受体后，导致特征性的神经元数量减少，如果发生在神经元发育的后期，可能是致命的。例如，消除小鼠 *TrkA* 基因，结果破坏了交感神经系统，如同阻断 NGF 的作用的突变体。然而，在许多其他的例子中，消除营养因子的作用不像预期的那样严重。例如，TrkA 受体的丧失对 NGF 敏感的隔区胆碱能神经元没有影响。另外，去除 BDNF 不损害运动神经元发育（虽然导致部分以 BDNF 作为自分泌营养因子的感觉神经元消失）。这种令人惊异的结果可由这种事实来解释，即许多神经元的存活被共同作用的多种因子调节，某些受体间存在交互反应（图 14-5），因此，一个因子可能部分代替另一个丢失的因子。

形成胆碱能神经元的因子　非神经细胞释放的因子如何决定迁移神经元的最后性质的最佳例子，来自对形成交感和副交感神经系统细胞的研究。这些细胞从**神经嵴**（neural crest）迁移而来，神经嵴是一个位于神经管背侧缘未分化的细胞柱（图 14-11）。从发育中的脊髓中央部产生的交感神经系统神经元，产生合成去甲肾上腺素需要的酶，去甲肾上腺素是交感神经元的神经递质。反之，副交感神经系统大部分发育来自脊髓的前部，合成和分泌乙酰胆碱作为它们的神经递质。产生肾上腺素或乙酰胆碱递质系统生化机制的发育，不取决于迁移的起始部位神经嵴，而是取决于细胞从神经嵴向外迁移的过程中，这些细胞遇到的一种因子。当单独培养未成熟的肾上腺素神经元时，它们能维

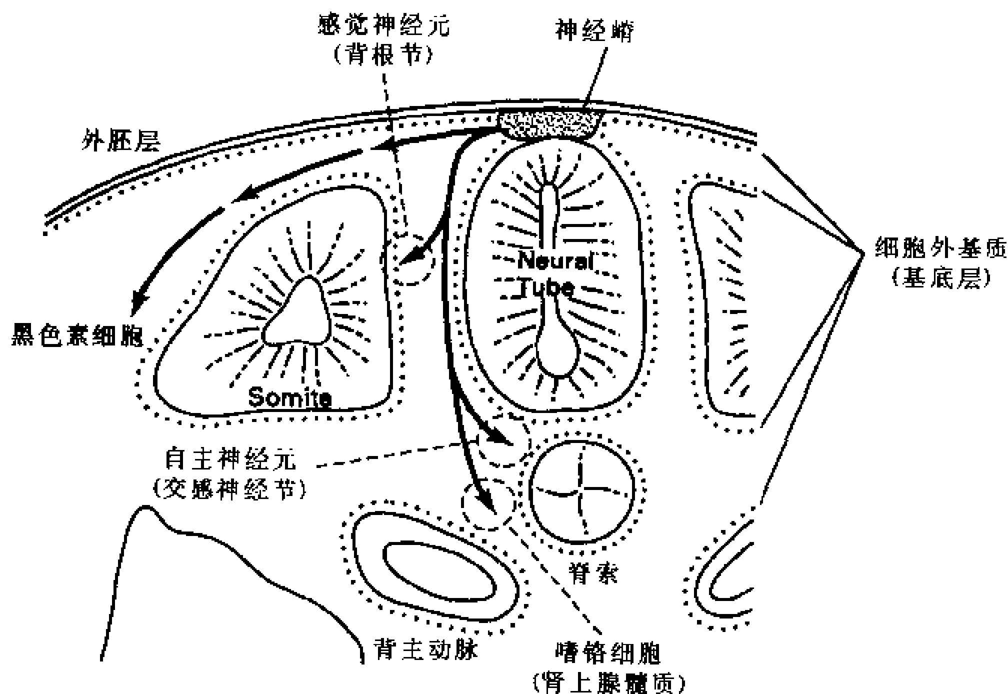


图 14-11　神经嵴。鸡胚躯干部横切面。从神经嵴部位迁移来的细胞发育成为感觉、交感、及副交感神经元，以及其他类型细胞。同时图示基膜的细胞外基质（见第 16 章）（改自 Sanes, 1983）。

持产生去甲肾上腺素的能力。然而，如果这些神经元在有非神经元细胞存在的条件下培养，例如和心肌细胞或其他正常接受乙酰胆碱传入的细胞共同培养，这些未成熟的肾上腺素神经元就停止合成酪氨酸羟化酶（它是合成去甲肾上腺素途径上的限速酶，见第9章）。相反，这些神经元合成胆碱乙酰转移酶，并将乙酰胆碱作为它们的递质。有几种不同的因子，从不同的组织分泌入培养基，每种因子都能产生这样的结果。其中一种能从心肌细胞分泌的培养基中纯化，叫做**白血病抑制因子**（leukemia inhibitory factor, **LIF**），已被称为**胆碱能分化因子**（cholinergic differentiation factor, **CDF**）。第二个因子为CNTF，已在本章稍早时提到过，有些因子也可能和细胞的膜连接，迁移中的细胞藉此进行接触。

虽然CDF/LIF可改变年幼动物的未成熟细胞中的递质类型，但是较老年动物的肾上腺素神经元对它的作用不敏感。因此，在发育期中存在一个关键时期，在该时期这些因子能够起作用。CDF/LIF作用的特别感兴趣的方面是它们的作用强烈依赖神经元电活动的量。直接电刺激培养的神经元，或用含高浓度钾离子的溶液使神经元去极化，能防止胆碱能因子的作用，维持神经元的肾上腺素能显型。这种电活动抑制胆碱能因子的作用是由于钙离子通过电压依赖性钙通道内流的结果。可能在发育时钙通道的活动决定了自主神经系统神经元选择何种活性因子作为它的递质。

应用基因突变来研究神经元生长和分化因子

研究发育的一个非常有力的方法为分析突变型，突变时某些正常发育的部分被扰乱。进行基因实验的一个得天独厚的动物是**果蝇**（*Drosophila*）。我们在第6章中已经看到，对叫做 ***Shaker*** 的突变果蝇的研究如何得出钾通道家族的特征。现在我们简短地介绍两种突变体，叫做 ***Notch*** 和 ***Sevenless***。来说明近年来获得的关于其他蛋白质因子调节神经元分化的主要见解。不像上面讨论的可溶性营养因子，这两种新的因子均为膜的成分，需要细胞和细胞直接的接触来实现它们对神经元分化的作用。

Notch 基因座　　果蝇正常发育时，沿着胚胎腹侧正中的一条细胞带形成**神经发生区**（neurogenic region）（图14-12a）。此区的细胞或者发育成为神经母细胞，沿着果蝇腹侧索产生神经元，或者发育成为上皮母细胞，最终形成覆盖在腹侧索表面的上皮。(记住果蝇是无脊椎动物，因此神经母细胞分裂产生神经元)。在正常情况下，大约四分之一的神经发生区细胞形成神经母细胞。然而，在本世纪早期首次注意到有一种突变的果蝇，正常成为上皮母细胞的细胞却转变成为神经母细胞，结果神经系统肥大并且没有腹侧的上皮。

这些动物的缺陷位于DNA的一段叫做 ***Notch*** **基因座**的部位。这个部位DNA的完全缺失，产生上述上皮前体细胞命运的改变。从而造成胚胎的死亡。DNA这个区域的其他突变型不都是致命的，而是产生多种发育的异常，特别是眼和翅膀的异常。

Notch基因座编码一个2703个氨基酸的大蛋白质（图14-12b)。这个蛋白质的结构具有在同一分子中既有生长因子又有受体的某些特征，它含有一段疏水氨基酸，跨于胞浆膜上。靠近这个蛋白的氨基端有一段含38个氨基酸的序列，含有6个半胱氨酸残基。

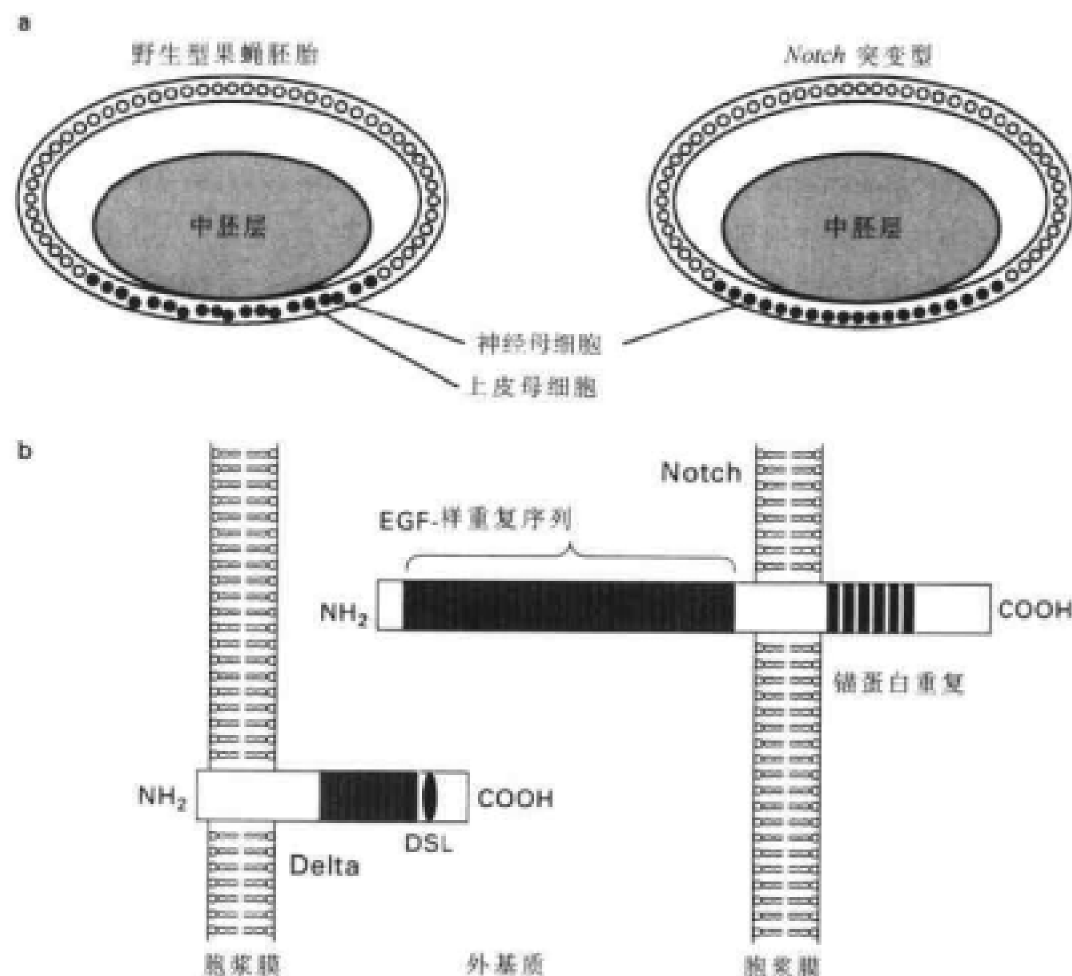


图 14-12 Notch 突变。a：正常果蝇及神经母细胞多余的 Notch 突变果蝇胚胎横切面。b：Spyros Artavanis-Tsakonas 及其同事（1988）推论的 Notch 蛋白序列。Notch 和邻近细胞的 Delta 配体结合。

每段含有 6 个半胱氨酸残基的 38 个氨基酸序列的变种，在位于细胞膜外的整个 1700 个氨基酸的大部分，一前一后纵行排列重复出现。这些重复序列的每一段和**上皮细胞生长因子**（epidermal growth factor，**EGF**）及其相关生长因子的某个区域很相似。事实上 EGF 是首批其特征被完全了解清楚的细胞生长因子之一。它刺激包括星形胶质细胞在内的各种细胞的分化。因此推测 Notch 蛋白中 EGF 样的重复序列是作为一种膜固定生长因子的形式。Notch 的细胞内的结构域不像迄今为止任何我们曾考虑过的受体，但也含有一组对其机能必需的重复结构域，这些六个细胞内的重复序列类似**锚蛋白**（ankyrin），锚蛋白是将细胞骨架锚定在细胞膜的转运者上的一种红细胞蛋白，因而称为**锚蛋白重复**（ankyrin repeats）。

Notch 的功能确实是一种受体。它的配体是一种叫做 **Delta** 的蛋白。将果蝇中编码 Delta 蛋白的基因去除，将产生如同 Notch 丢失同样的发育改变。但是，Delta 蛋白不像大多数我们知道的配体那样，Delta 本身也是一个膜结合蛋白（图 14-12b）。如同 Notch 那样，Delta 蛋白在它的细胞外结构域中也含有几个 EGF 样重复。它也含有一个富于半胱氨酸的区域，叫 **DSL 图形**（名称源自 Delta-Serrate-Lag-2；此图形含有三个其他蛋白

质名称)。它对 Delta 结合到 Notch 是必需的。但是 Delta 不像 Notch，它仅仅是膜结合配体，不会成为受体。这样它那较短的细胞内结构域对正常的信号传导是并不需要的。

上皮中所有前体细胞的起始是同样的。在它们的胞浆膜上都有 Notch 和 Delta。每个细胞的 Notch 受体结合邻近细胞的 Delta 受体。但是，生化的反馈机制扩大了这些信号蛋白活性的微小的自然差别。因此高水平 Delta 的细胞降低了它们自己 Notch 受体的活性，但被提高了 Notch 活性的细胞所围绕。于是低 Notch 活性的细胞发育成为神经母细胞，而它们高 Notch 活性的邻居成为上皮母细胞。这个邻近细胞间互相作用的过程已被命名为**外侧抑制**（lateral inhibition）或**外侧特殊化**（lateral specification)。

进一步的基因实验使我们了解 Notch 受体介导的信号传递通路，至少有一种成分是 Su（H）（被诙谐地命名为**秃头抑制者**，suppressor of hairless）的蛋白质。这个 594 个氨基酸的蛋白质和哺乳动物 RBP-Jk 转录因子家族有关（转录因子的详细内容见第 16 章)。胞浆中的 Su（H）蛋白和 Notch 细胞内结构域上的锚蛋白重复部分结合。当 Notch 结合它的配体 Delta 时，Su（H）被释放并移位入细胞核，在核内可能改变形成上皮母细胞所必需的基因的活性。

Notch 及其伙伴 Delta 的类似物在所有动物均能见到。它们位于许多分裂中的细胞膜上，它们对于神经系统形成的作用并不是特殊的。反而它们对邻近细胞间互相作用的许多状况似乎是需要的，这种作用的结果转变了它们发育的方向。

Sevenless　另一个果蝇突变型为 *Sevenless* 突变型。它提供着有关决定特殊类型神经元形成分子的有意义的见解。这个突变型改变了果蝇复眼中称为 R7 的感光细胞的命运。果蝇的复眼由几百个称为**小眼**（ommatidia）的单位组成。每个单位含有精确排列的八个感光神经元，即 R1～R8（图 14-13)。如同典型的感光细胞，这些细胞具有长的突起，叫做**感杆**（rhabdomeres)，含有光敏色素．这些伸长的感杆围绕中心轴排列。其中一个细胞叫 R7，对紫外光特别敏感。其中六个细胞，即 R1～R6，横跨在小眼的全长。其他两个细胞的感杆，R7 和 R8，仅仅跨越小眼长度的一半。R7 细胞位于 R8 的上方。直接位于这些感觉神经元上方的是一群四个为一组的锥状细胞，它们的机能是合成覆盖眼结构的非神经元的成分，包括角膜在内（这些锥状细胞本身不是神经元，不要和脊椎动物视网膜的视锥感光细胞混淆)。

当正常发育时，组成小眼的细胞从尚未确定的前体细胞的群落中产生。R1～R8 细胞和锥状细胞按固定的先后序列生成，R7 是最后形成的感觉细胞。但在 Sevenless 突变型，R7 细胞不发育。正常应该成为 R7 的细胞代之分化为一个覆盖眼的锥状细胞（图 14-13)。

如同我们前面讨论过的 Notch/Delta 介导的细胞分化过程一样，R7 细胞的正常形成过程需要膜结合配体和邻近细胞上的膜受体相互作用。但在 *Sevenless* 突变型情况下，在一组相同细胞中不出现这种如同在神经发生区见到的外侧特殊化的相互作用。相反，在神经元 R8 和最终成为 R7 的两个不同类型的细胞间，发生称为**诱导信号传递**（inductive signaling）的过程。*Sevenless* 基因位点编码一个大的跨膜受体蛋白，该受体的胞浆侧含有一个激酶结构域，类似 EGF 及神经营养因子受体的酪氨酸激酶结构域（图 14-5)。已经证明当 R7 细胞本身的受体酪氨酸激酶发生缺陷时，导致发育异常。但当眼的

其他细胞受体酪氨酸激酶发生缺陷时不会出现发育异常。而且存在 Sevenless 受体信号传导需要的第二个基因。称为 **Sevenless 之子**（son of sevenless），或 **Sos**。它编码的蛋白质通过促进 GDP 向 GTP 转化激活信号分子 ras（图 14-7）。

前体细胞转化为感觉神经元 R7 所必需的配体可见于紧靠在 R7 下方的 R8 中。这个配体由 **Sevenless 嫁接物**（bride of *sevenless*）基因编码，也称为 *boss* 基因。*boss* 基因的配体为一个膜蛋白，带有七个跨膜区及大的细胞外结构域。如同 *Sevenless* 那样，*boss* 基因缺陷的突变型也不能形成 R7 神经元。按照这个模式，当缺少 R8 *boss* 基因配体发出的信号时，R8 上方的前体细胞发育成锥形细胞。R8 神经元中的 *boss* 基因与 R7 前体细胞中的 Sevenless 结合后，受体-配体复合物通过胞饮作用进入 R7 前体细胞的胞浆内。在叫做**多泡体**（multivestibular bodies）的膜结构上可看到 sevenless/boss 复合物。当 sevenless 受体被 boss 配体成功地激活时，构成 R7 感觉神经元中对紫外光敏感的相应蛋白质开始合成。

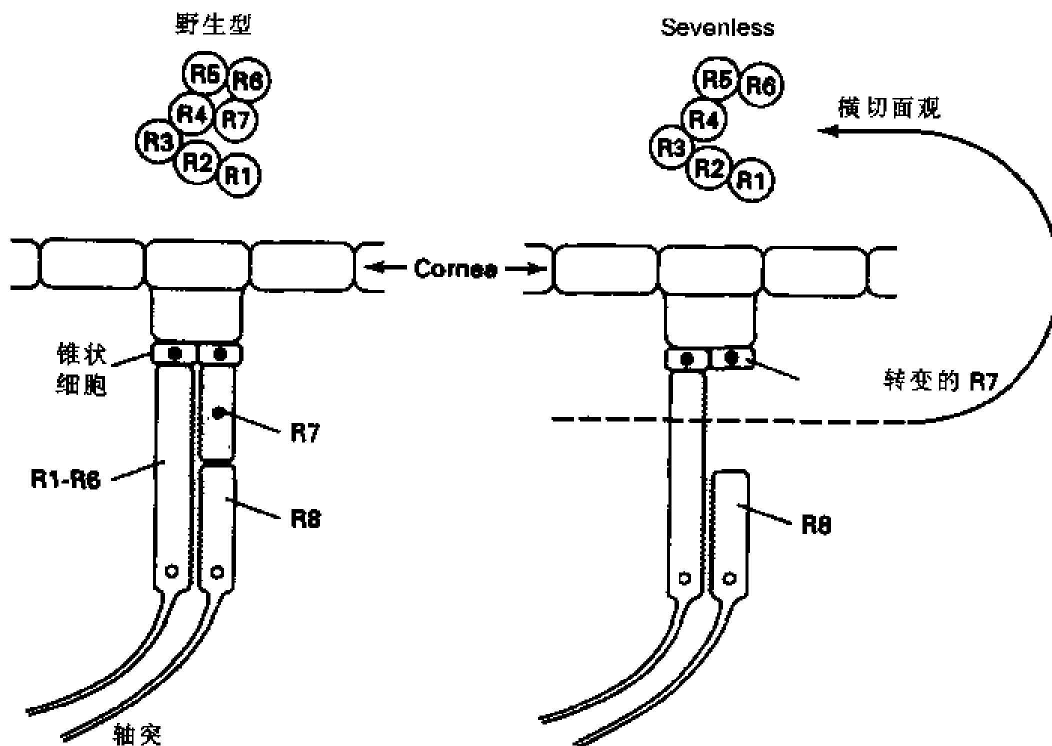


图 14-13 *sevenless* 突变体。正常和 *sevenless* 小眼的切面及纵行观（Palka and Schubiger，1988）。

我们已经看到受体酪氨酸激酶和参与这些受体活动的信号通路，对确立神经元及其他细胞的特性起关键作用。有待解决的一个重要问题是：当这些受体被激活时，是什么决定了这些变化的具体内容？大部分情况下应该是由分化早期的变化所决定，这些早期变化使细胞易于对特定细胞内蛋白质合成的变化起反应。另一个重要的因素可能是作用于信号中的时间长短，例如，对一个曾经出现过的膜结合配体对邻近细胞上的反应时间过程，很可能对可溶性营养因子的反应是不同的。

类固醇激素

神经系统的许多细胞的适当发育，依赖于体内其他器官分泌的激素作用。部分激素列于表 14-2 中。和肽类激素不同，这些激素为脂溶性，容易从血液进入脑中。它们跨过细胞膜也不需要胞浆膜中特殊的载体或受体。有证据表明，这些激素主要通过神经元或胶质细胞胞浆中这些激素的受体蛋白，从而影响神经系统。在多数情况下，不同的受体蛋白位于特定的神经元群组，而不是均匀地分布于整个神经系统。

表 14-2 对发育重要的类固醇激素

类别	例子	来源
雄性激素	睾丸酮	性腺
雌性激素	β-雌二醇	性腺
黄体酮	黄体酮	性腺
糖皮质激素	肾上腺皮质酮	肾上腺
盐皮质激素	醛甾酮	肾上腺

类固醇激素怎样起作用　　对这些激素的作用了解得清楚的模式为通过一类受体蛋白，在激素存在的条件下，直接与细胞核中的 DNA 结合，促使特异性基因转录。这些受体蛋白的一般结构可见图 14-14a。这类激素不同受体的 DNA 结合区和激素的结合区是高度类似的。图 14-14b 显示富于半胱氨酸的受体 DNA 结合区的部分序列。据认为受体和锌离子形成配体络合物。产生两个**锌指**[1]（zinc fingers），锌指是允许蛋白和 DNA 结合的结构特征。

当细胞接触到激素时，受体与激素结合并发生结构变化，使 DNA 结合区和细胞 DNA 的特异性短序列互相作用。这些 DNA 序列称为**激素反应成分**（hormone response elements，**HREs**）。它们位于基因的近端，该基因编码蛋白质的表达受类固醇/甲状腺素激素家族调节。虽然 HRE 所处编码蛋白质基因的确切位置、在不同基因可能是不同的，但是，由特殊激素调节的每个基因的 HREs 序列是非常类似的。泌乳激素为一种肽，它的合成受类固醇激素雌激素的调节，它的基因的 HRE 序列可见图 14-14c。

类固醇激素的组织作用　　这些激素对神经元作用的例子，来自性腺类固醇对生殖行为控制作用的研究。雄性和雌性动物脑的某些确定的神经细胞群在大小及突触连接方面存在差别，大鼠脑的一个这样的细胞群为**视前区的性二性核**（sexually dimorphic nu-

1）锌指：为转录因子与其特异性的基因调控序列结合的一种结构域。一个以锌原子与组氨酸、半胱氨酸络合而成的四角形结构为中心，连接若干其他氨基酸，形成状如手指的结构，与 DNA 序列结合。具有很强的保守性。——译者注

cleus of the preoptic area，**SDN-POA**)，雄性要比雌性大五倍。雄性动物该核区神经元数量的增加是发育时睾丸酮作用的结果。如果雌性大鼠在胚胎发育的后期直到出生后头10天用睾丸酮处理，SDN-POA 发育如同雄性一样（图 14-15)。有趣的是，睾丸酮的作用不是经由睾丸酮特异的受体介导的，而是由神经元内的酶将睾丸酮转化为雌激素，这个过程叫做**芳香族化**（aromatization)（图 14-15)。因此，雌性素实际上是细胞内的活性激素，用一种高活性的雌激素类似物乙烯雌酚（diethylstilbestrol）处理未成熟的雌性动物，也能导致 SDN-POA 发育成为雄性类型。

类固醇激素改变发育途径的作用是一个称为类固醇激素**组织作用**（organizational effects）的例子。尤其是，激素的作用是永久的，并严格局限在发育的一个关键时期。例如，雌性大鼠出生六天以后再用睾丸酮处理就不会改变 SDN-POA 的大小。还不知道神经元发育的哪些特殊过程对睾丸酮和雌激素敏感（图 14-1)。

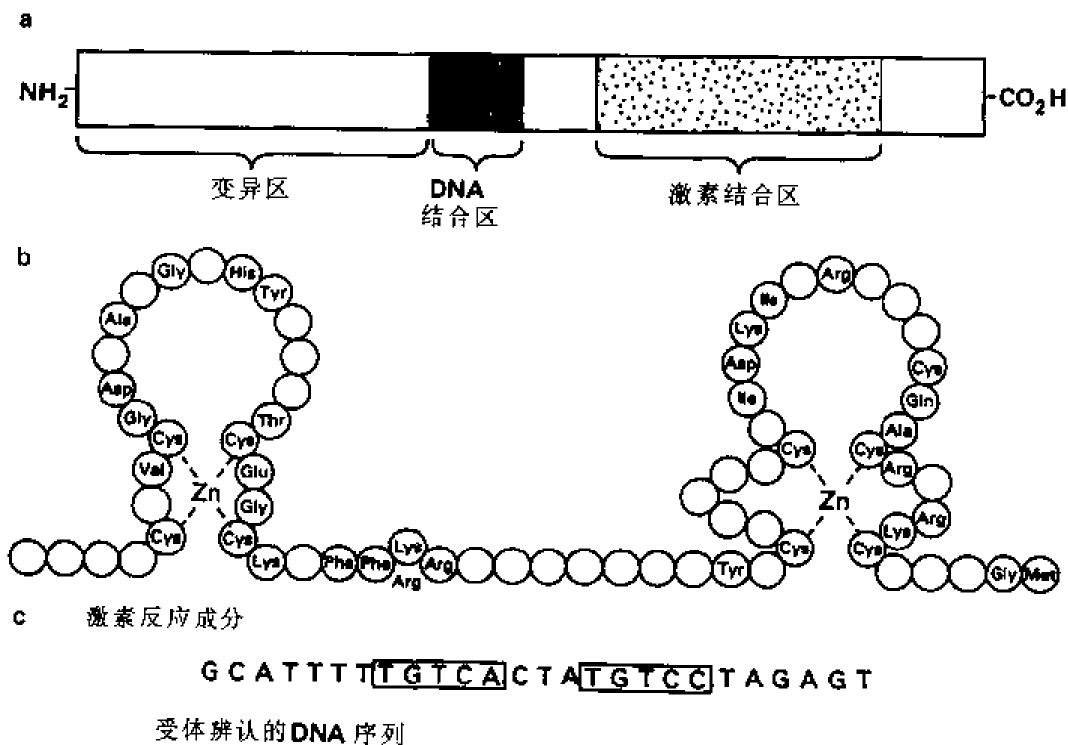


图 14-14 类固醇受体。a：受体中三个截然不同区域的轮廓。b：DNA 结合区的氨基酸序列。命名的氨基酸可见于这个家族几乎所有的受体中。c：结合雌性素受体必需的泌乳激素基因内的 DNA 序列。

类固醇激素的激活作用　类固醇激素的作用不仅仅在发育时形成特异的神经元通路。激素也能调节许多成熟神经元的性质，因而影响动物特异性行为的产生。而且这种作用在生殖行为中特别明显。因而称为**激活**（activational）作用。例如，成年雄性大鼠支配和交配有关肌肉的神经元的形态和树突分支范围，对睾丸酮的变化敏感。另一个研究得很好的例子是雌激素和孕酮对诱发雌性大鼠脊柱前凸行为的作用。当这个行为发生时，雌性大鼠呈现一种特殊的身体姿势，表明性的感受。控制脊柱前凸行为的神经元群位于丘脑下部的腹内侧核。提高雌性素的水平，导致这些神经元的形态产生改变。如胞

体增大，以及各种蛋白质的合成增加，包括孕酮受体。随之孕酮水平提高，正如动情周期时正常应该出现的那样，进而促使引起脊柱前弯行为必需的蛋白质的合成。

由雌性素和孕酮的持续作用引起的神经元特性的改变，以及可能的突触重塑的本质尚未清楚。但是已知雌性素增加腹内侧核中甲基-脑啡肽以及催产素受体的合成，而其他递质的受体，例如 GABA 和乙酰胆碱受体的数量可能减少。类固醇激素可能控制神经元的发育通路，从而形成定型的生殖行为。

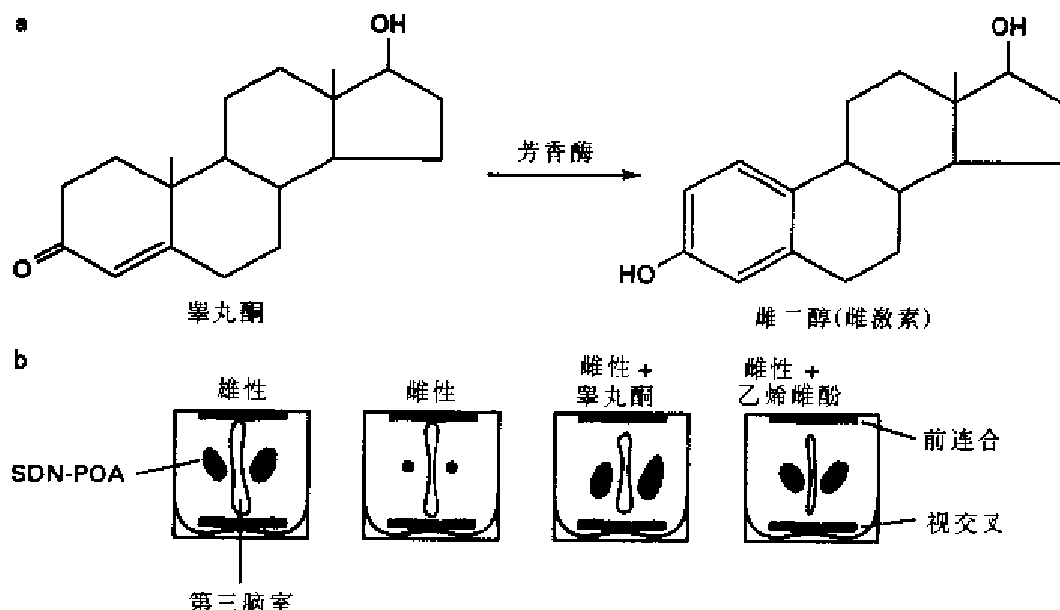


图 14-15 类固醇激素。a：睾丸酮对雌激素的芳构化。b：通过视前区性二性核（SDN-POA）的断面，为 Roger Gorski（1989）及其同事们提供，示正常雄性和雌性大鼠以及类固醇处理的雌性大鼠。

鸣禽体内睾丸酮对神经元的调节　　类固醇影响神经元特性的最清楚的例子之一可见于鸣禽，例如金丝雀（canaries）。在金丝雀身上，激素使成年神经元特性产生明显的可塑性变化。要强调的是发育期和成年期可塑性的机制是共同的。在繁殖季节，成年雄性金丝雀唱着由单音节组成的固定形式的歌曲。这种定型的音节类型叫做**稳定歌曲**（stable song）。虽然任何一只鸟的歌声在春天繁殖季节比较固定，稳定歌曲声中特殊的音节类型在随后的几个月消失。此时动物唱出的音节不断变化，叫做**可塑歌曲**（plastic song），可能产生以前几年未用过的新音节。在下一个繁殖季节，该鸟在它的稳定歌曲中获得了全新的音节类型。

控制金丝雀歌唱的一群神经元位于前脑，叫做 **RA 核**（nucleus robustus archstriatalis，RA）（图 14-16a）。这些神经元接受前脑另一个叫做**高级发声中枢**（higher vocal center，**HVA**）核团的传入，许多 RA 神经元再投射到延髓的运动神经元。这些神经元直接和鸣管的肌肉连接，鸣管产生组成歌曲的声音。成年雄性金丝雀的 RA 和 HVA 比雌性大好几倍，雌性的歌曲比雄性的简单得多。在 RA 核中，这种区别是由于雄性 RA 的神经元数量增加，以及树突分支的范围增大和突触连接增多所致（图 14-16b）。雌性金丝雀用睾丸酮处理后可增加 RA 和 HVA 核的大小，诱导树突的生长及新突触的连接。

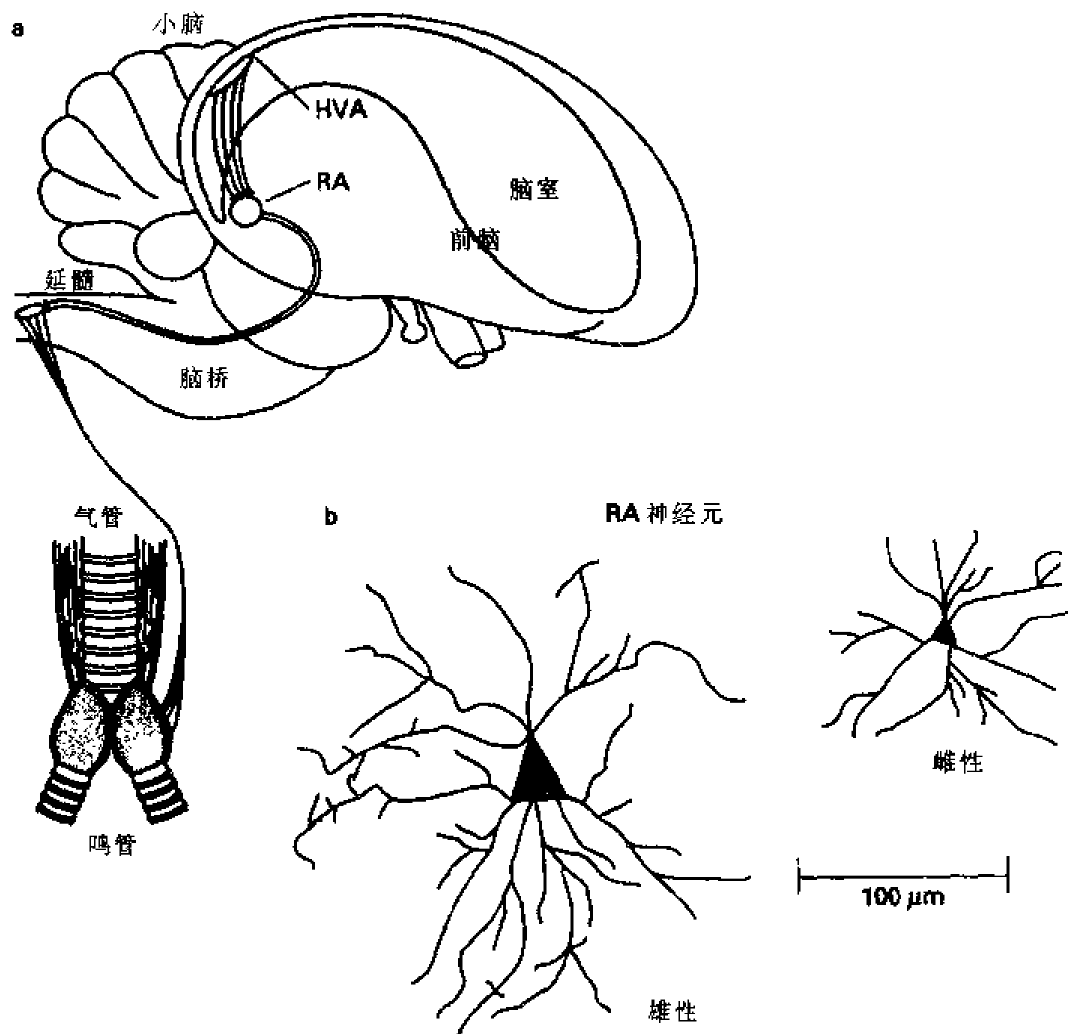


图 14-16 类固醇在鸣禽中的作用。a：由 Nottebohm（1989）及其同事们证明的金丝雀控制歌唱的脑环路。b：雄性和雌性斑胸草雀 zebra finches 的 robustus archistriatalis 核的神经元形态（Gurney, 1981）。

睾丸酮对这些神经元的重组也能引起类似雄性动物的歌曲类型。

对雄性金丝雀睾丸酮进行全年测量进一步证明，睾丸酮对维持这些神经元形式和连接起着促进作用。血中睾丸酮的水平在夏天和秋天的早期是低的。此时主要为不同的可塑性歌曲。其后，睾丸酮水平提高，RA 和 HVA 核成倍增大。当这种情况出现时，歌曲类型变成定型的主要在春天唱的稳定歌曲。

鸣禽的神经元形式和连接重组的一个令人感兴趣的内容，不仅仅是激素能改变预先存在的连接，而且可能有新的神经元加入通路。成年动物很少有前体细胞分裂、分化以及加入到神经元通路的例子。当将能结合在分裂细胞 DNA 上的同位素标记的**胸腺嘧啶**（thymidine）注射到成年灵长类脑中，见不到标记的神经元。反之，在成年鸣禽上进行同样的实验可见到许多标记的神经元，包括 HVA 中的神经元，但 RA 中没有。就像在正常发育期的脑一样，成年鸟类的神经发生位于一条脑室附近的前体细胞带，然后这些细胞沿放射形的胶质细胞迁移到它们的最后目的地，建立成熟神经元的形式和连接（见

图 14-1)。似乎这些神经发生代表神经元的更新，而不是动物一生中神经元数量的继续增加。因为雄性和雌性动物神经发生的速率是相同的，而且神经发生也不是出现在创造新歌曲的时期，因此 HVA 新神经元对歌唱行为的意义尚不清楚。

神经系统中类固醇作用的机制是什么 上述描述的那些研究提示，在许多神经元中影响发育及树突分支和突触连接最终类型的蛋白质，可能由偶连到类固醇和相关激素 HRE 的基因所编码。但是，某些对类固醇雌激素高度敏感的神经元似乎不具有雌激素受体，提示雌激素的作用很可能是间接的。而且类固醇的药理反应不经常和经典的类固醇受体一致。另外，已经发现某些类固醇能直接作用于神经元的胞浆膜，增强神经递质 GABA 的反应。这些资料证明关于这些激素在神经系统中的作用，我们还有许多的地方不知道。

小结

神经系统的发育需要不同的因子参与，这些因子影响神经元的决定、繁殖、迁移及分化。决定神经元命运的因于可能是可溶性分子，例如从神经元靶区或邻近细胞释放的神经营养素。发育中神经元与邻近细胞表面的配体互相作用，能决定它们的命运。许多这类因子补充和酪氨酸激酶受体的激活偶联的细胞内信号通路。远处器官释放的激素，包括类固醇激素，也能深刻影响发育中及成熟神经元的类型和机能。果蝇及其他基因已经清楚的分子生物学基因方法的应用，提供了这些发育因子某些作用机制的新见解。

15

黏附分子及轴突寻路

我们已经知道神经元的电活动能以各种方式被转变及调节，从而使神经元能控制特殊的行为。但是电活动并不是其他细胞或外来刺激调节神经元活动的惟一方面。神经元的结构特征，例如一个神经元形成的突触数目，大小及类型也能改变。甚至，成熟神经元树突分支的整个形状也能随着时间而改变。图 15-1 说明了这一方面的变化，它显示在活体小鼠完整的神经系统中，对一个颈上节神经元树突的追踪。向该神经元内注射荧光素，并立即将树突形状画下来，在动物体内经过数周后，再将荧光细胞显示并画下。在此期间，树突分支类型出现了明显的改变，并推测树突上的突触连接也发生明显改变。虽然大部分控制这种细胞形态变化的因素尚不清楚。这些实验支持这样的设想，即成熟神经系统神经元活动的长期调节，可能伴随着神经元结构及连接的重组。为了检查这种重组，我们必须首先理解在神经系统形成时导致形成特殊分支类型的因素。

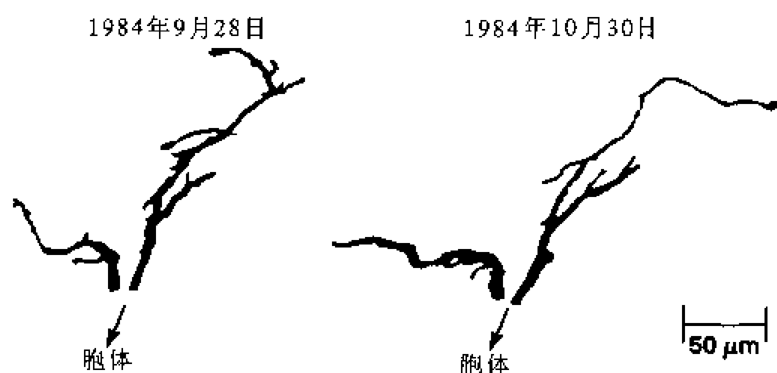


图 15-1 树突的重塑。成年小鼠颈上节的一个神经元，被 Purves 和 Hadley 注射了荧光素（1985）。两张图显示树突本身在一个月期间的形状变化。

发育时轴突生长

一个未成熟的神经元一旦到达它在神经系统的最终位置，它必须向这些神经元同伴伸出轴突及树突分支，并与合适的突触同伴建立接触（图 14-1）。在某些情况下，神经突起在细胞迁移时可能已经建立。例如，我们在前一章中曾讨论过的小脑颗粒细胞在发育时的情况，某些神经突起在细胞沿着 Bergmann 胶质细胞迁移前即已出现。带尾巴的神经突起于是留在胶质细胞纤维的全长，最终成为颗粒细胞的轴突。然而，一般来说神

经突起出现在细胞迁移之后。

生长锥　神经突起的生长被细胞上一个叫做**生长锥**（growth cone）的特殊区域引导，它位于神经突起的最前端。生长锥主要在细胞培养中研究，神经突起的延伸物在显微镜下容易检查。图 15-2a，b 说明生长锥部位的主要特征。中央核心为神经突起本身的延伸物，丰富的微管对轴浆运输提供结构支持（见第 2 章）。用视频增强的显微镜能看到颗粒双向运输到中央核心。另外，生长锥的核心富于线粒体，内质网，以及管状结构。

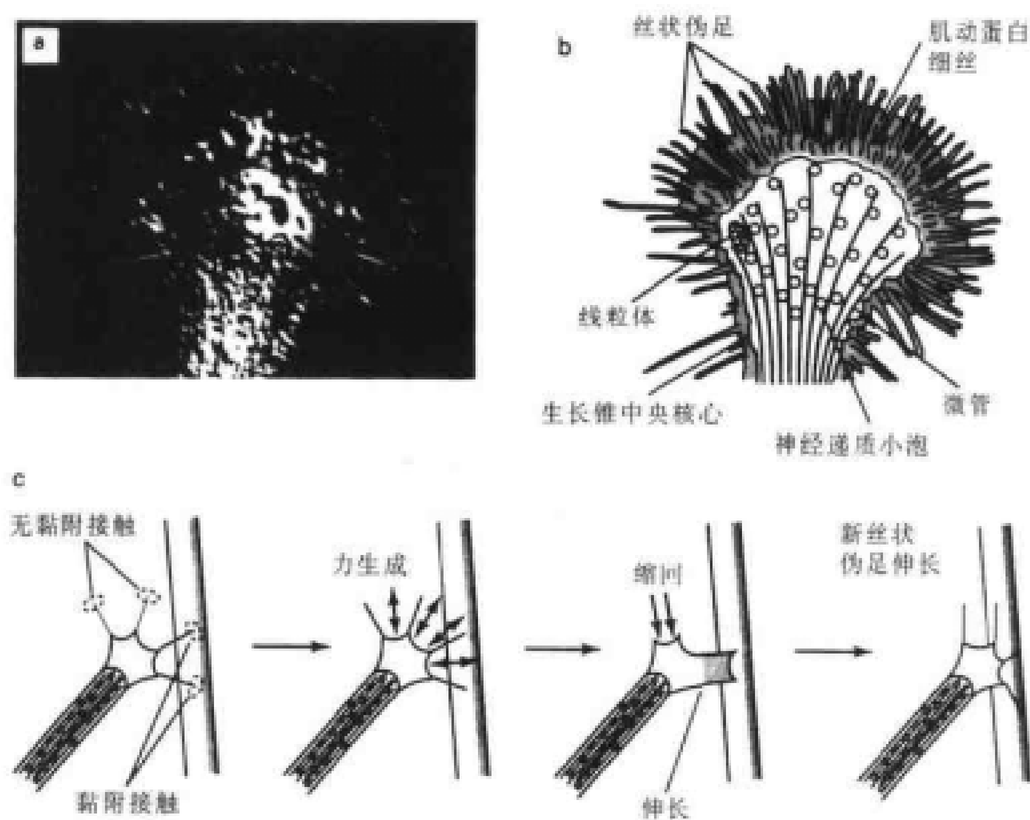


图 15-2　生长锥。a：细胞培养中一个海兔神经元的生长锥照片（Forscher and Smith，1988）。b：生长锥的组成。c：简图显示生长锥如何选择性黏附到它的基质并可能引导生长的方向。

一般来说，中央核心的周围是一个没有细胞器的区域，但是有许多能收缩的蛋白质（**肌动蛋白**，actin）。这些区域称为**板状伪足**（lamellipodia），慢速拍摄的照片显示这些区域存在波浪形的运动波，称为**起皱**（ruffling）。最后，在板状伪足的末端见到很细的直的突起，叫**微突起**（microspikes）或**丝状伪足**（filopodia）。它们同板状伪足一样富于肌动蛋白。微突起总是在运动，从板状伪足伸出或缩回。当微突起伸出时神经突起生长，收缩时位于原处，板状伪足向前推进到微突起的尖端（图 15-2c）。于是新的微突起从板状伪足向前推进，形成新的边缘向前延伸。

是什么使生长锥运动　生长锥的运动和肌动蛋白的聚合和解聚的不断循环有关。

在生长锥的最前端，肌动蛋白不断聚集，成为结构上的长**细丝**（filaments），叫 **F-肌动蛋白**（F-actin），在板状伪足和生长锥中央核心的结合处，肌动蛋白细丝的聚集被板状伪足另一端的这些细丝的解聚或裂开所平衡。这些合成和破坏的循环联系起来，使肌动蛋白细胞骨架逆向流动，从前端流回中央核心。F-肌动蛋白的逆行流动解释了在电视增强的显微镜下看到的波浪形移动波，这是由于马达蛋白分子产生的，类似我们在第2章中所见。因此这种马达蛋白很可能固定在胞浆膜上或中央核心的某些成分上。

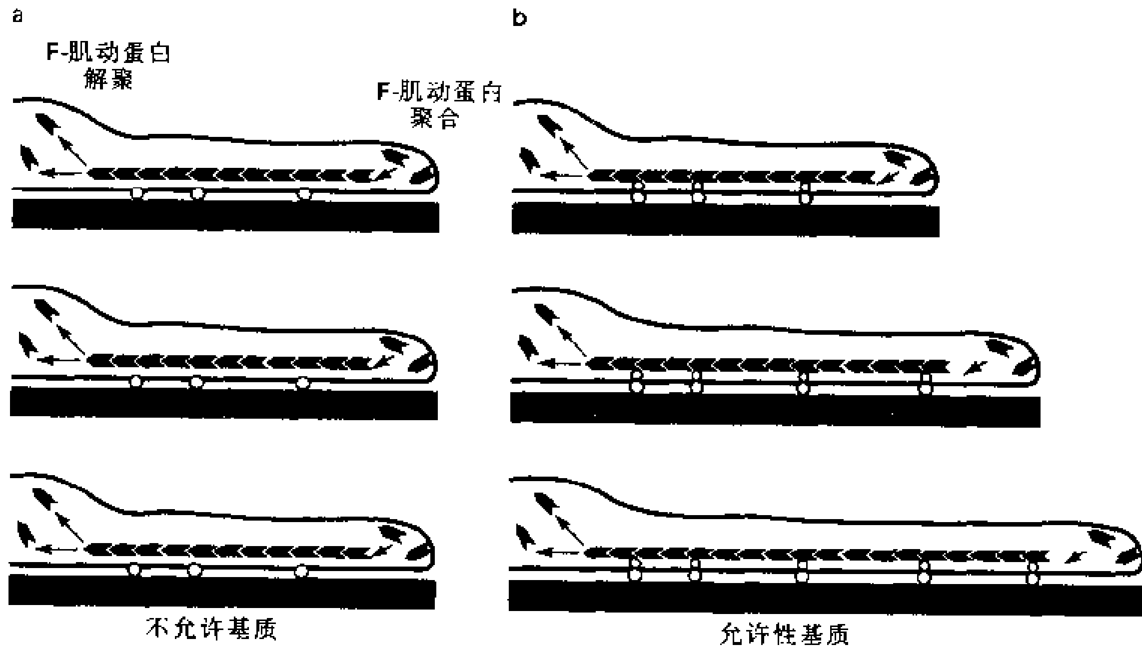


图15 3 板状伪足中肌动蛋白的装配。a：Paul Forscher及其同事们的实验推测，在对轴突延伸不允许的表面上，F-肌动蛋白细丝和表面不紧密连接，导致新装配的F-肌动蛋白持续的逆向流动。b：当F-肌动蛋白细胞骨架和基质偶联，F-肌动蛋白在最前端聚合，导致生长锥向前方延伸。

生长锥沿着表面或基质延伸的速度，取决于生长锥对基质黏附的强度。图15-3b显示神经突起伸长的假设简单模型。按照这个模型，生长的速度取决于F-肌动蛋白细胞骨架和基质间物理性偶联的强度。如同后面将要见到的那样，在神经元的膜上有许多分子，可作为从细胞骨架与外面世界的物理连接。如果这种偶联弱或缺乏，肌动蛋白的逆行流动正常进行，但不和基质偶联。在这种情况下，称这种基质对生长是**不允许**（non-permissive）的，生长锥静止不动（图5-3a）。反之，如果F-肌动蛋白细胞骨架和基质偶联紧密，这种偶联防止或减慢肌动蛋白细丝流向中央核心。代之以新肌动蛋白细丝在最前端的形成，引起生长锥向前伸长。这种较强的偶联出现在**允许性**（permissive）基质上（图15-3b）。

神经突起的延长不单是由于它的细胞骨架的延伸，随着生长锥朝它的靶区伸长，整个细胞大小的增大需要新的胞浆膜必须不断增加。应用荧光脂质的实验发现膜性脂质不断流向生长锥。新的脂质嵌入胞浆膜内，可见于胞体及沿着生长中轴突的全长。

轴突寻路　神经系统中轴突的生长不是任意进行的，而是沿着一条比较精确的道

路朝向靶区。而且轴突行进的通路对细胞本身是特殊的，可能和邻近细胞的道路非常不同。其中一个例子如图 15-4 所示，它说明蓑鲉（zebrafish）胚胎脊髓运动神经元轴突的生长。在蓑鲉身体的每个节段中可见三种运动神经元，叫做 RoP，MiP 和 CaP（吻侧、中间、尾侧初级运动神经元）。最初，所有三种细胞的生长锥离开细胞体，向腹侧同一方向延伸。然而，经过一个短期的生长后，MiP 细胞的轴突急剧转弯，朝向背侧行走，在背侧肌肉和脊髓之间继续向背侧生长。其他两种细胞的轴突继续行向腹侧，直至遇到背肌和腹肌接合部为止。在该处 RoP 细胞的轴突行向外侧，而 CaP 细胞的轴突继续向腹侧生长。于是这三种神经元支配蓑鲉每个体节的肌肉各不相同。

另一个固定型式分支类型的明显例子是蚱蜢胚胎。它的神经系统比较简单，可精确确定几个不同的已知神经元轴突的走行类型。当遇到一个特殊的环境，例如遇到另一个神经元或胶质细胞时，轴突的生长锥可能被迫行向另一个方向，而邻近神经元的轴突可能继续朝某一个方向行向适当的靶区。已经观察到当生长锥到达这种标志细胞时，它实际上可能伸出它的微伪足深入到该细胞。这样的相互作用可能产生了生化反应，改变了膜的黏附性，因而改变了轴突后来的迁移。

在某些情况下，例如神经束路的生长，大量的轴突开始可能沿着同一方向生长，一束紧密结合的轴突叫做**神经小束**（fascicle），由小束形成的束叫**神经束**（fasciculation）。在轴突神经小束的生长中，跟随周围环境的提示进入通路的第一个神经元，叫做**先锋细胞**（pioneer cell）。后来轴突的生长锥可能沿着先锋神经元的轴突生长，形成神经小束。然而，这些后来的神经元在先锋神经元的纤维缺乏时，有时似乎也有能力对生长方向作出适当的决定。

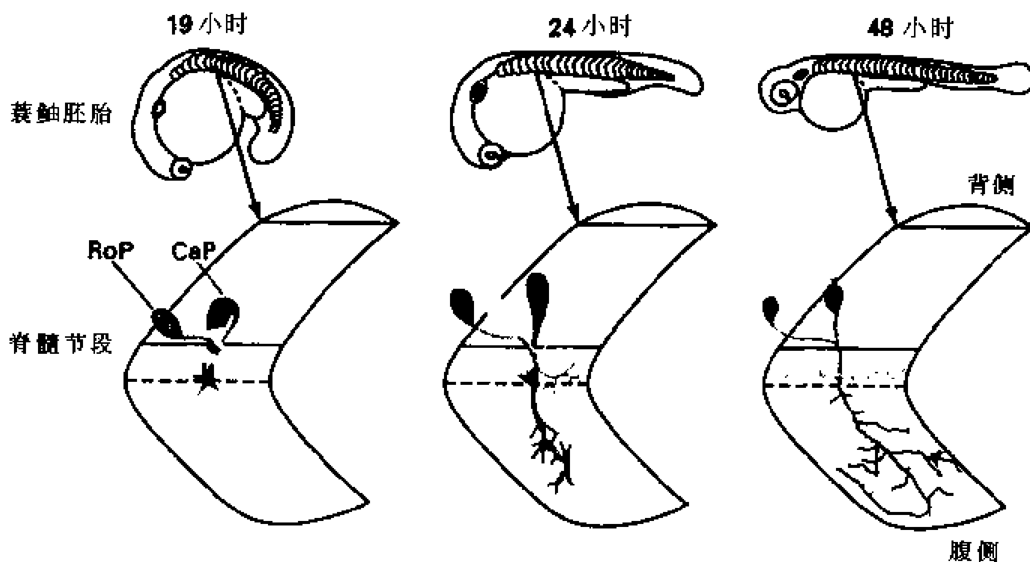


图 15-4　轴突寻路。Westerfield 和 Eisen（1988）研究了蓑鲉脊髓的胚胎发育、追踪充满荧光素的运动神经元的支配途径。这三种神经元的每一个神经元分支都遵循一个固定的类型支配不同的肌肉群。

黏附对定向生长是重要的　　在脊椎动物和无脊椎动物的不同系统中，已经描述过

轴突的这种固定形式的分支类型和定向生长。究竟是什么机制产生这样的固定行为？在控制生长锥方向的因素中，最重要的因素是不同的生长锥对沿途遇到的其他细胞和表面的**特异性黏附**（differential adhesion）。一个细胞如何黏附到它的周围环境，并和它产生机械性的相互作用，对神经系统来说这个问题不是特异的。但是，神经元在控制不同轴突和树突的向不同方向生长，并最终建立突触接触所需的特异性程度上，是非常特殊的。

因此，我们将对某些已知的存在于神经元中或神经元上的黏附分子作一说明。应该指出的是，这些被描述的分子，除了它们对轴突的固定形式生长有作用外，也影响神经元的迁移、分化和形态发育。黏附分子和生长因子-受体复合物的区别，可能在于黏附分子需要足够的数量，以提供机械的黏附，而不是简单地从外环境向细胞转导信息。

引导神经突起向特定的方向生长的分子，通过下列三种普遍的机制之一运作（图 15-5）：

（1）细胞-基质黏附。通过使神经元及其他细胞黏附到细胞外间隙的非细胞成分的分子。

（2）通过直接膜接触的细胞-细胞交流。神经元或其他细胞间的许多相互作用，可能需要一个细胞表面的分子和邻近细胞膜内的互补受体直接结合。和细胞-细胞黏附有关的一个特别分子叫做**细胞黏附分子**（cell adhesion molecules，**CAMs**）。

（3）通过可溶性因子的细胞-细胞交流。它们包括能被其他神经元或非神经元细胞分泌的神经递质及肽类因子。

我们再来逐一考虑这些机制。

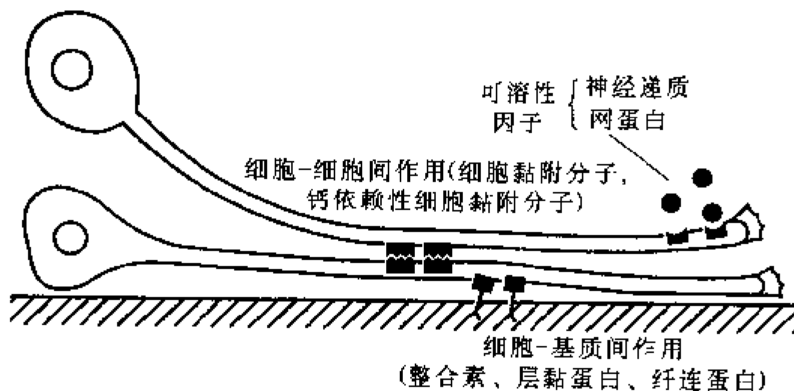


图 15-5 决定神经突起生长数量和方向的因素。包括神经元和其他细胞、基质及其他细胞释放的可溶性分子间的相互作用。

细胞-基质黏附

什么是细胞外基质 我们已经提到，神经元黏附在它遇到的特殊表面上的能力，在它向神经系统的适当位置迁移，以及神经突起向适当的靶区生长方面，起着很大的作用。对于某些类型的神经元，它们大部分的迁移和轴突的伸长，不越过其他细胞的表面，但是要经过一个缺少细胞的**细胞外基质**（extracellular matrix）。这种基质不仅对细

胞迁移是一种必需的物理性基质，而且对和它接触的细胞性质具有深刻的影响。例如，许多细胞的正常分裂和分化，例如施万细胞，需要和基质的互相作用。因为这些细胞外空间的固定成分和细胞膜的化学组成相比，是相对简单的，所以，许多关于神经元黏附和神经突起生长的认识来自对细胞-基质的研究。

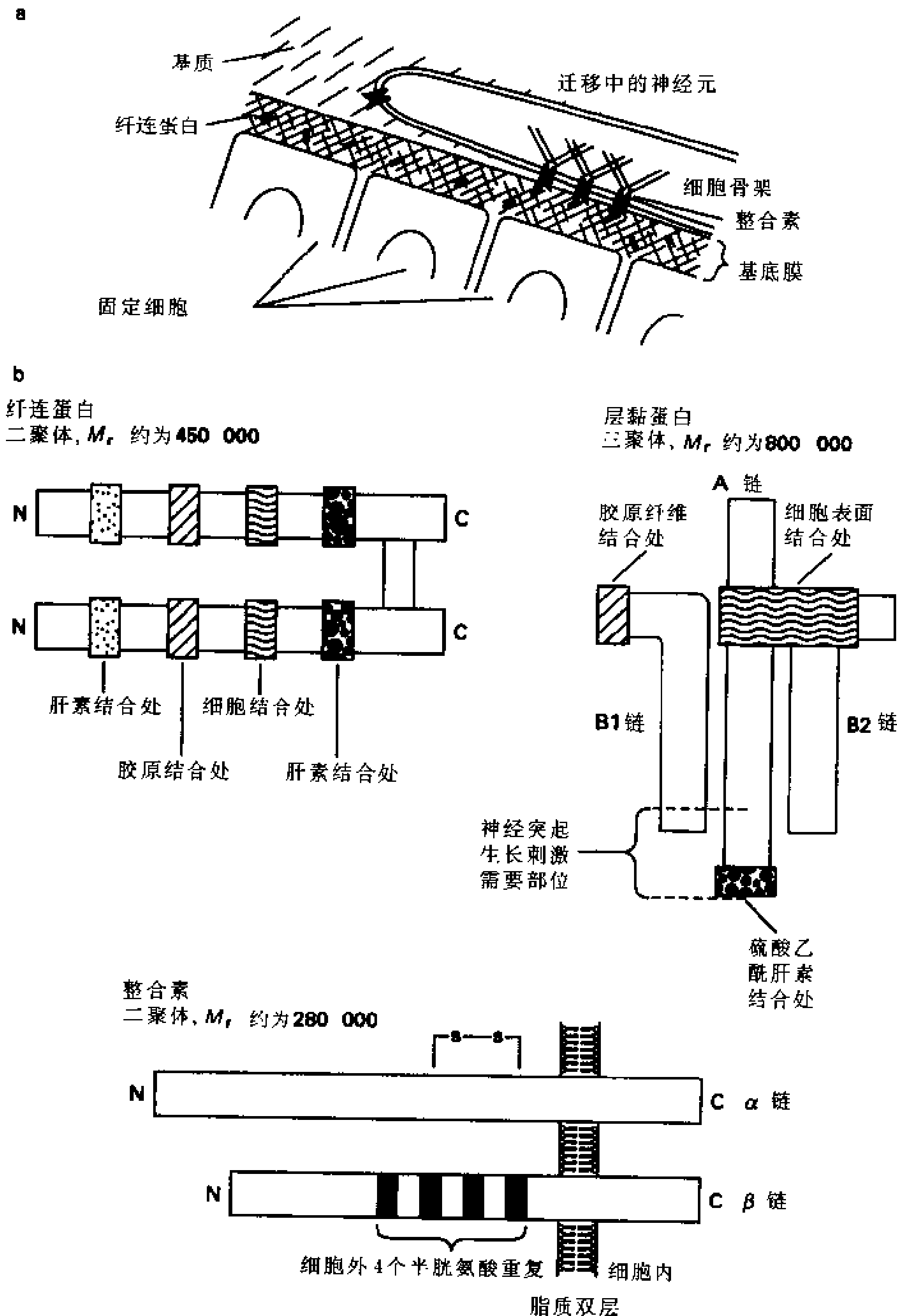


图 15-6 神经元-基质的相互作用。a：细胞外基质。b：细胞-基质相互作用中有关的某些分子的结构。

基质黏附分子　许多非神经元周围的空间充满着糖蛋白和糖的疏松网格。靠近细胞膜的部分，细胞迁移时不通过该处，移动，网格变得较致密，形成**基底膜**（basement membrane）（图 15-6a）。网格的主要成分列于表 15-1 中。特别令人感兴趣的是蛋白质，即**纤连蛋白**（fibronectin）和**层粘蛋白**（laminin）。这些蛋白质已经纯化，在组织培养皿的表面涂了一层这些蛋白后培养分离的神经元，已经确定了它们对细胞黏附和神经突起生长的作用。两种物质均能明显地促进几种类型神经元的黏附及神经突起的伸长。图 15-6b 说明纤连蛋白和层黏蛋白的结构。两者均为很大的糖蛋白复合物，含有几种不同的结构域，每个结构域似乎具有特殊的作用，能和细胞外基质的其他成分结合，或者和细胞膜结合，促进神经突起的生长。因此它们可能是将细胞黏附在基质上的"胶"的主要成分。

纤连蛋白和层黏蛋白对细胞的粘附是由叫**整合素**（integrin）的受体蛋白介导的，它存在于许多神经元和其他细胞的胞浆膜上（图 15-6b）。例如，整合素纤连蛋白受体的细胞外结构域和纤连蛋白分子的精氨酸－甘氨酸－天门冬氨酸－丝氨酸（Arg-Gly-Asp-Ser）氨基酸序列结合。类似的序列在许多分子上均可见到，这些分子和许多非神经细胞的其他整合素结合。整合素由两个亚单位组成。α－亚单位调节和不同配体相互作用的特异性。另一方面，整合素 β－亚单位较短的胞浆结构域直接和肌动蛋白细胞骨架的成分结合。在细胞内骨架和细胞外网格之间提供直接的连接（图 15-6a）。

整合素不仅为细胞外基质提供机械的连接。如同某些其他受体分子一样，配体的结合引起胞浆膜上这些受体的聚集。当聚集出现时，许多酪氨酸蛋白激酶和整合素细胞骨架复合物结合，因而被激活。例如，在上一章中叙述的 Ras/Raf/MEK/ERK 通路，以及蛋白激酶 C 通路，被整合素刺激激活。但是，还不知道是否所有的细胞外基质分子对诸如神经突起生长等的作用，是通过整合素受体家族介导的。

表 15-1　细胞外基质的某些成分

成分	说明
胶原纤维（collagens）	脯氨酸中富于糖蛋白的家族
纤连蛋白（fibronectin） 层黏蛋白（laminin） 软骨蛋白（chondronectin）	和细胞膜上受体结合的伸长糖蛋白、也和胶原纤维等细胞外基质的其他成分结合
透明角酸（hyaluronic acid） 硫酸软骨素（chondroitin sulfate） 硫酸乙酰肝素（heparan sulfate）	黏多糖——不分支的二糖聚合体

细胞外基质在神经嵴细胞迁移中的作用　发育神经科学家最有用的标本之一为神经嵴，它是发育中神经管背嵴上的一群细胞。我们在第 14 章中讨论胆碱能因子分化的作用时，曾提到过这些细胞（图 14-11）。最终成为交感或感觉神经节神经元的细胞来源于神经嵴。除了交感及感觉神经元以外，神经嵴细胞还可能发育成为黑色素细胞，施万细胞，及肾上腺髓质细胞。对这个细胞系统的分析已经集中于证明许多和神经分化有关的分子。图 14-11 也显示了神经嵴细胞迁移到它们最终目的地的方向。这些细胞迁移

经过的途径中细胞较少，但是充满了含有纤连蛋白的细胞外基质。基质中纤连蛋白的水平在迁移时期较高，但在迁移停止后下降。而且，神经嵴细胞黏附在胶原基质上的能力直接依赖于纤连蛋白。

细胞-细胞黏附

虽然细胞外基质在周围神经的细胞迁移和神经突起的生长中起着重要作用，但中枢神经系统缺乏明确的细胞外基质。仅在沿大脑血管和充满液体的脑室壁上发现有基膜。因此中枢神经的神经元及其轴突的移动大部分出现在其他细胞的表面。而且，即使在周围神经系统中，许多轴突的生长也出现在上皮细胞及其他轴突的表面上。和上述描述的称为**基质黏附分子**（substrate adhesion molecules，**SAMs**）的分子不同，两个细胞膜的物理性连接是通过**细胞黏附分子**（cell adhesion molecules，**CAMs**）实现的。

细胞黏附分子　细胞黏附分子是 Gerald Edelman 及其同事从鸡视网膜的细胞悬液中首先发现的。当这些细胞在培养中被分离后，它们很容易再聚集成一群细胞簇。已经

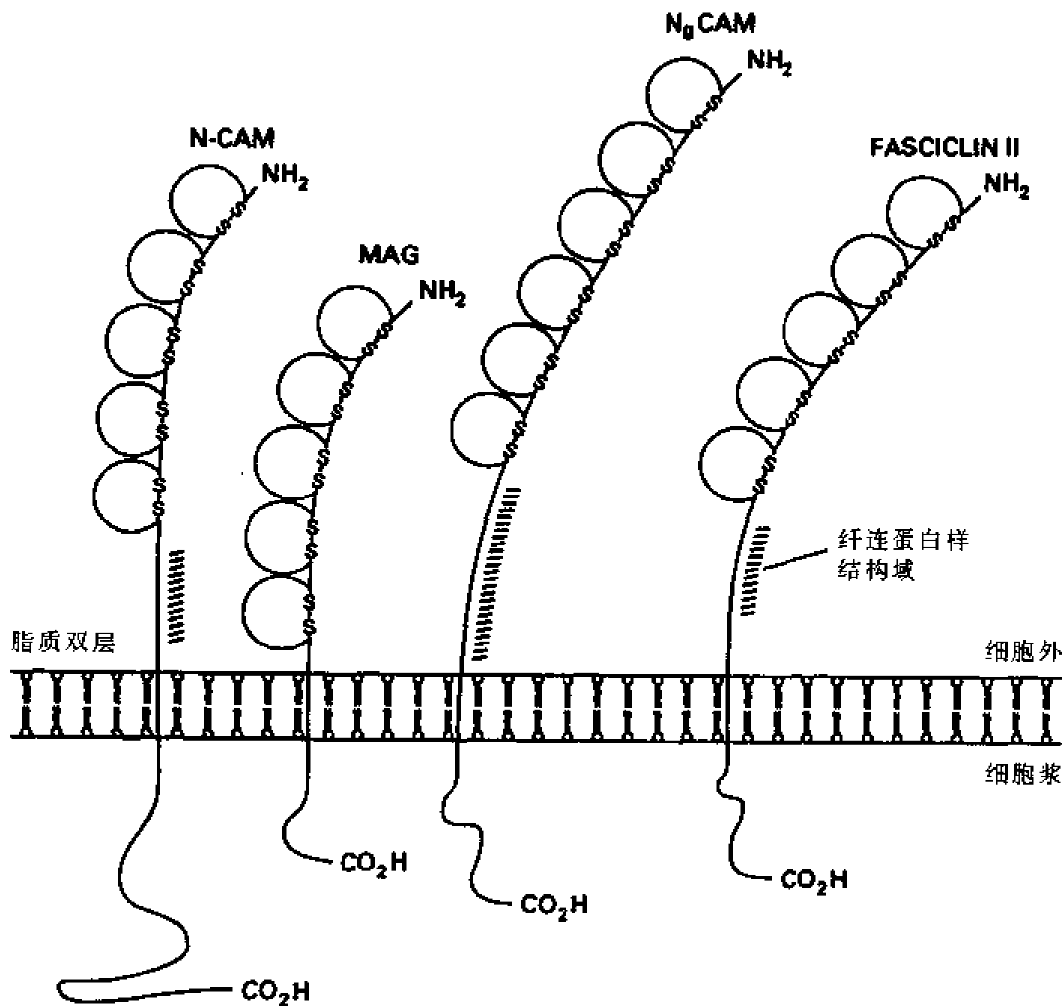


图 15-7　细胞黏附分子。四个 CAM 结构的例子。

制备出能特异性地防止再聚集的抗体，可用于分离和这些抗体结合的膜糖蛋白。用这种方法分离的第一个蛋白叫做**神经元-细胞黏附分子**（neuronal-CAM，**N-CAM**）。

神经元-细胞黏附分子是细胞黏附分子家族中的一员，现已发现在神经元及许多其他细胞中表达。图 15-7 显示神经元－细胞黏附分子和其他三个细胞黏附分子的类似性，它们只表示很可能存在的细胞黏附分子片段。**Ng－细胞黏附分子**（Ng-CAM）是在特异的轴突束路上发现的黏附分子。**髓鞘相关糖蛋白**（myelin-associated glycoprotein，**MAG**）是一个胶质细胞黏附蛋白。将要在下面描述的**束素Ⅱ**（ffasciclin Ⅱ）是在蚱蜢神经元的亚群上表达的糖蛋白。这些分子的细胞外部分具有一系列的结构域，每个结构域在两个半胱氨酸残基之间含有大约 50 个氨基酸。通过形成-S-S-桥，使结够域形成环状。非常类似的结构可见于免疫球蛋白，叫做免疫球蛋白 C2 型结构域，它的分子和淋巴细胞免疫反应的装配（mounting）有关。因而认为细胞黏附分子属于**免疫球蛋白超家族**（immunoglobulin superfamily）。

据认为大部分细胞黏附分子和邻近细胞的相同细胞黏附分子结合，引起细胞-细胞黏附。因此，一个细胞的神经元-细胞黏附分子直接和邻近细胞的神经元-细胞黏附分子的分子结合，成为细胞间的**亲同种**（homophilic）相互作用。但是，如同图 15-7 所示，某些分子也含有纤连蛋白同源的区域。这些叫做Ⅲ型结构域的区域，包含精氨酸-甘氨酸-天门冬氨酸（Arg-Gly-Asp）序列，这些序列用以与整合素结合，提示这些分子可能和细胞的表面蛋白以多种方式互相作用。另一个和细胞黏附分子有关的重要家族为**钙依赖性黏附分子**（cadherins）。**神经元-钙依赖性黏附分子**（N-cadherins）是神经系统中研究得最好的例子，虽然它也在非神经细胞中发现。如同细胞黏附分子一样，一个神经元-钙依赖性黏附分子和邻近细胞上的另一个神经元-钙依赖性黏附分子结合。但和细胞黏附分子不同的是这种结合需要有外部钙离子的存在。

特异性黏附分子抗体对发育中细胞作用的重要实验揭示了细胞黏附分子和钙依赖性黏附分子与正常发育有关。例如，阻断神经元-细胞黏附分子或神经元-钙依赖性黏附分子的亲同种结合的抗体，能中断视网膜正常发育成为细胞层次区分明确的结构（图 15-

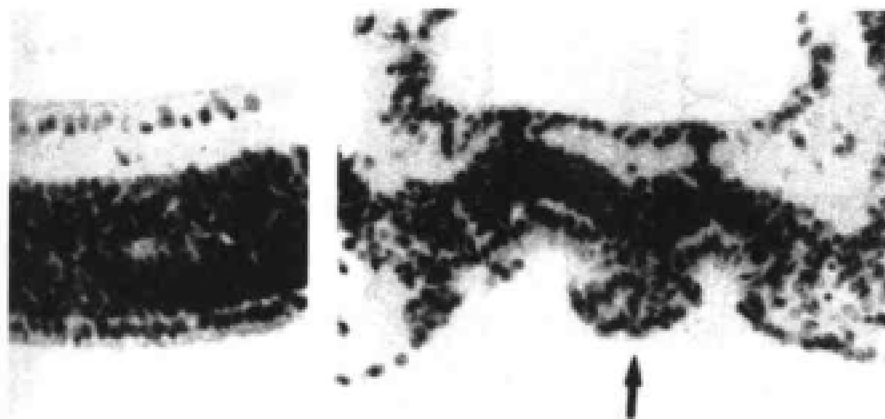


图 15-8 视网膜片段被抗神经元-钙依赖性黏附分子抗体破坏。M. Takeichi 及其同事们试验了抗体对鸡胚视网膜结构完整性的作用。左侧的照片显示用对照抗体孵育 4 天后染色切片中的正常片段。右侧照片为用抗神经元-钙依赖性黏附分子抗体孵育的片段。箭头示破碎的感光层（Matsunaga et al.，1988b）。

8)。另一个神经元-钙依赖性黏附分子在视网膜轴突生长中作用的实验，是将视网膜碎片放在一层不能在表面正常表达神经元-钙依赖性黏附分子的细胞上面，在这种情况下，虽然移植的视网膜细胞具有神经元-钙依赖性黏附分子，神经突起不能从视网膜生长到单层细胞上来。然而，当向单层细胞导入黏附蛋白的活动基因，使细胞产生神经元-钙依赖性黏附分子时，可观察到旺盛的神经突起向外生长（图 15-9）。

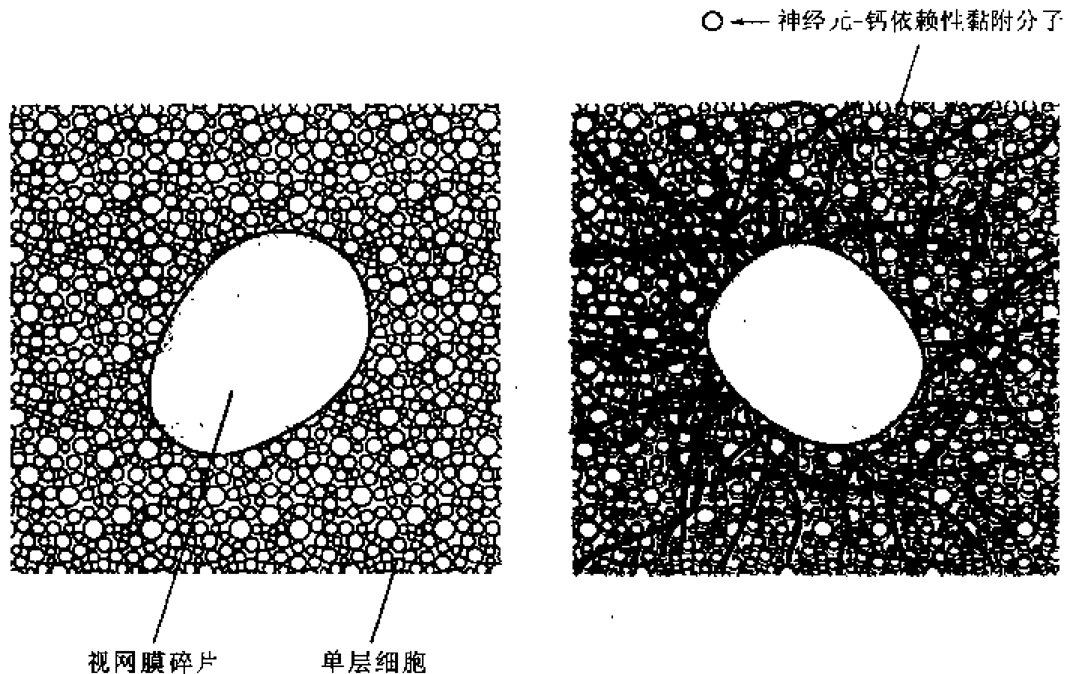


图 15-9 神经元-钙依赖性黏附分子引导视神经纤维在其他细胞上面生长。M. Takeichi 及其同事们显示的另一个实验（见图 15-8）。当视网膜碎片放在不含神经元-钙依赖性黏附分子的细胞层上时，外植物的神经突起不向外生长。当细胞层改而能表达神经元-钙依赖性黏附分子时，可见神经突起向外生长（Matsunaga et la.，1988a）。

细胞黏附分子和钙依赖性黏附分子是否为轴突导向特异的原因　我们在本章较前部分曾提到，生长中的轴突对它们生长的方向可作出特异性的决定，这些决定可能和邻近轴突的决定不同（图 15-4）。生长中的神经突起对邻近细胞表面的特殊分子不同的黏附，看来是轴突生长选择什么途径的核心，有证据显示细胞的黏附分子可能和这种选择有关。因为原型分子（prototype molecules）神经元-细胞黏附分子和神经元-钙依赖黏附分子广泛分布在整个神经系统，它们一般认为是一种较为非特异的胶，帮助细胞迁移及伸出突起通过周围的组织。相反，某些其他的细胞黏附分子，例如 Ng-CAM 和**束素Ⅱ**（fasciclin Ⅱ），仅在特异的神经元和特异的轴突束上发现。而且，在发育的特殊时期，这些细胞黏附分子可能在神经元表面短暂地出现，它们位于和某些其他细胞接触的膜的部位。

蚱蜢胚胎的研究对细胞黏附分子和束素Ⅱ在选择性引导轴突方面的作用提供了一个有益的例子。在胚胎很早期，束素Ⅱ存在于所有外胚层细胞的表面，但在较晚阶段，仅

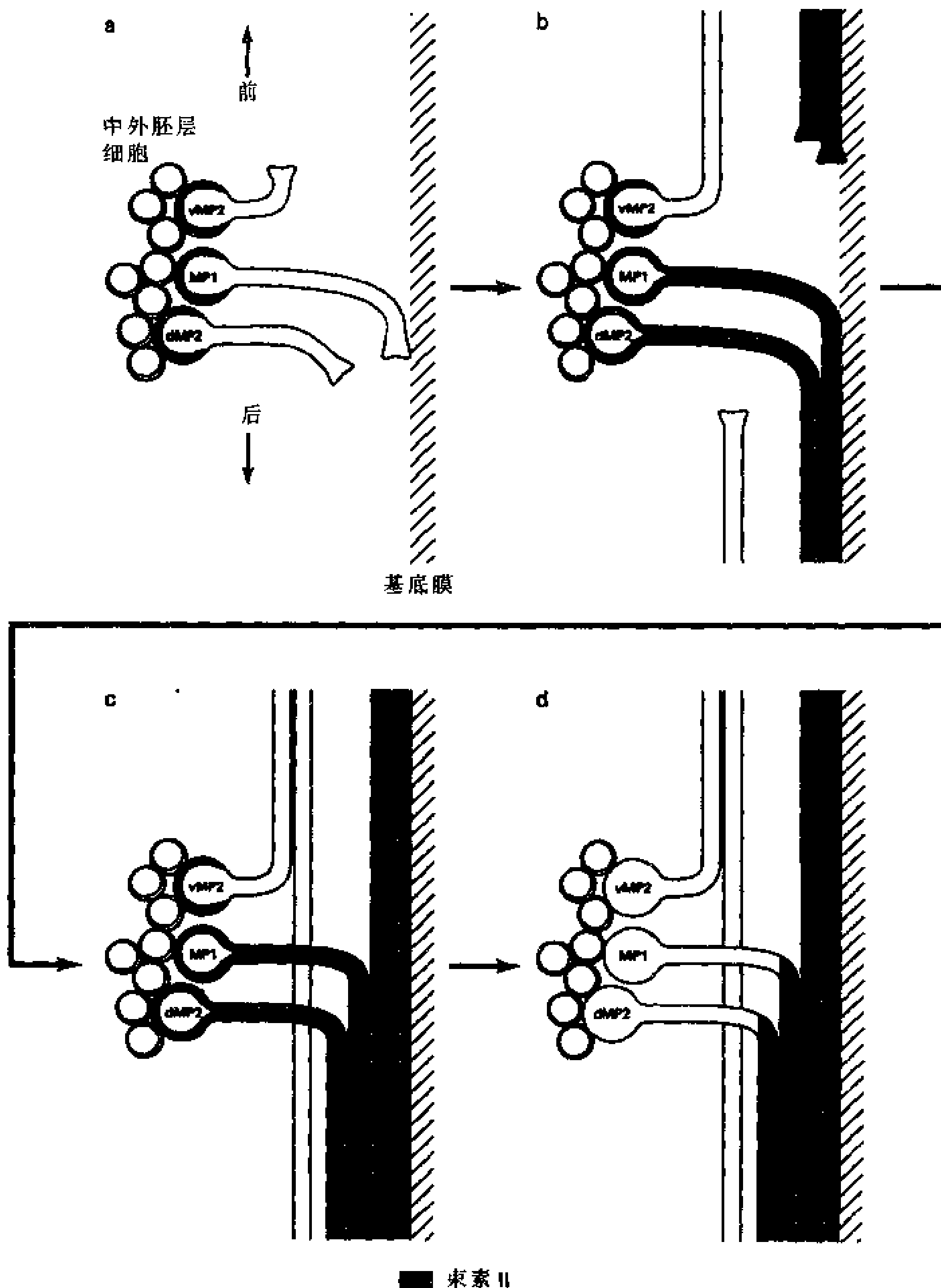


图15-10 轴突生长时细胞黏附分子的变化。Corey Goodman及其同事们用免疫组化研究三个蚱蜢神经元轴突生长时细胞黏附分子，束素Ⅱ定位的进行性变化（Harrelson和Goodman，1988）。

在发育中的神经系统的每个节段内的细胞和神经元的亚群上能看到。图15-10说明束素Ⅱ在三个神经元，即MP1，dMP2，vMP2中的分布，这些神经元附着在中线的中外胚层（mesectodermal）细胞上。开始时三种细胞的轴突在胶质细胞的表面沿着基膜向外生长，此时轴突和生长锥还不含有束素Ⅱ，虽然细胞体内已含有束素Ⅱ（图15-10a）。当

这些神经元中的 MP1 和 dMP2 两个神经元轴突向后方生长时，开始接近邻近节段中其他 MP1 和 MP2 神经元的轴突。此时，这两种神经元的整个膜上开始表达束素Ⅱ，包括生长锥在内（图 15-10b)。当轴突到达下一个节段时，它们停止沿着基膜走行，开始黏附在这个节段的 MP1 和 MP2 神经元的轴突上，形成轴突的神经小束（图 15-10c)。当发育中的胚胎和束素Ⅱ的抗体一起孵育时，这些轴突互相辨认和形成这些 MP1/dMP2 神经小束的能力被选择性地破坏。

和 MP1 及 dMP2 神经元相反，vMP2 神经元的轴突向前方生长，轴突最终和其他 vMP2 神经元的轴突汇合，形成独立的 vMP2 神经元小束（图 15-10c)。虽然 vMP2 胞体表达束素Ⅱ，轴突和生长锥在任何阶段都不携带这种黏附分子。在发育的晚期，所有三种神经元胞体的束素Ⅱ都消失，而在 MP1/dMP2 轴突中仍然保留（图 15-10d)。

这些及类似的实验结果显示了这样的画面，即在特殊的时间和部位，出现在生长中的神经元表面的黏附分子，提供了一个黏附的“路面”，引导轴突走向适当的方向。于是，上述的 vMP2 神经元胞体上的束素Ⅱ提供了对中外胚层细胞的暂时黏附，而另一个尚未证明的细胞黏附分子，可能提供对其他 vMP2 神经元轴突的黏附。对 MP1 和 dMP2 神经元，同一个细胞黏附分子及束素Ⅱ，既提供对中外胚层细胞，又提供对其他同源的轴突的黏附。

细胞黏附分子的多样性　如果许多不同轴突的生长锥要向它们最终的目的地运动的话，必须要有相当大量的特殊细胞黏附分子存在。有些目前已被描述的分子被赋予诗样的名称，如 amalgam，neurofascin 和 contactin。甚至，将必然发现有些结构上可能和免疫球蛋白超家族无关的分子。另外，相当大的多样性可能主要由同一基本分子的不同形式表达产生。例如，神经元-细胞黏附分子蛋白有三种不同长度的密切相关的类型。它们共用一个细胞外结构域，但 C-端区的长度不同。其中两个跨过胞浆膜，如图 15-7 所示，而第三个缺乏跨膜和胞浆结构域，通过含有环己六醇的脂类黏附在细胞膜上。

很可能除了不同细胞黏附分子的表达变化外，已经表达的细胞黏附分子的改变可能产生细胞或神经突起黏附性质的进行性变化。例如，许多结合到神经元-细胞黏附分子蛋白上的糖，组成一个叫做**多唾液酸**（polysialic acid）的寡糖。当鸡胞发育时，神经元-细胞黏附分子由胚胎型转变为成年型。这种现象是由于多唾液酸的进行性丢失造成，从胚胎时神经元-细胞黏附分子重量的 26% 到成年时仅有 9%。这种结合的寡糖的减少导致神经元-细胞黏附分子黏附力量的显著增加，可能因为多唾液酸阻碍了正常的黏附相互作用。

信号素和轴突黏附抑制　到目前为止，我们考虑过的每一个细胞黏附分子都结合到邻近细胞表面的类似分子上，提供这些细胞间的亲同种的（homophilic）相互结合。其他类型的细胞－细胞相互作用也可引导生长锥向它们适合的目标生长。**信号素**（semaphorin）是第二类为特殊生长锥导航选择通路的分子。它有两种形式，膜糖蛋白和可溶性因子（图 15-11)。膜性信号素具有带短的胞浆尾的单个跨膜结构域，以及大的叫做**信号素结构域**（semaphorin domain）的细胞外序列。然而，和细胞黏附分子相反，分离细胞膜上的信号素不会引起分离细胞聚集成团。但是与黏附分子相同的是，信

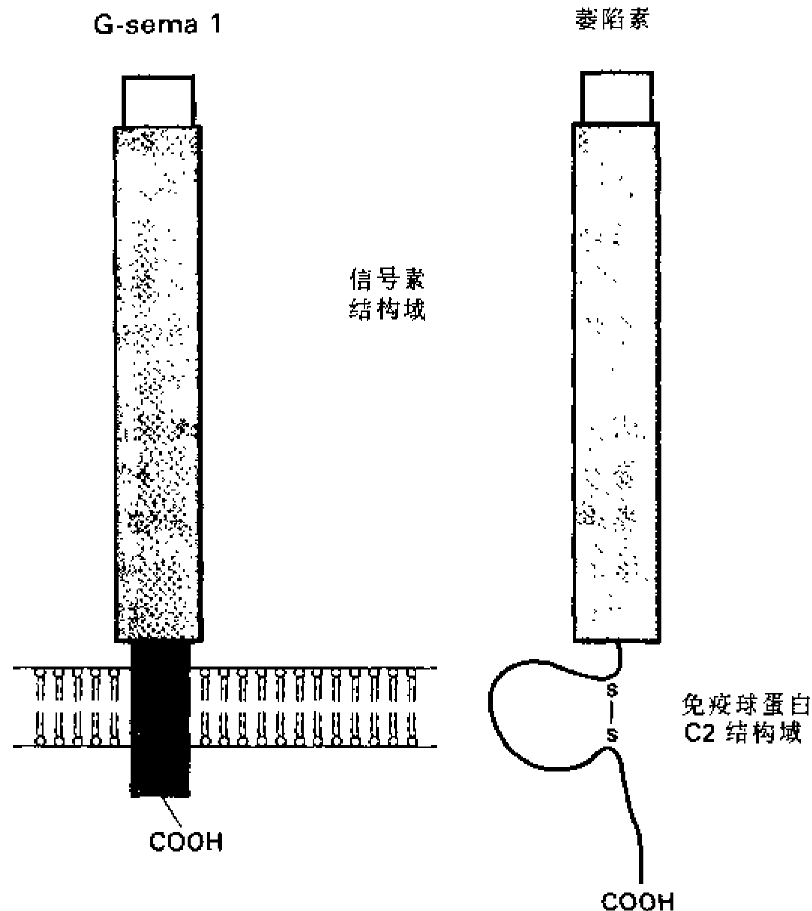


图 15-11 信号素分子。G sema 1 是蚱蜢细胞的一个膜蛋白。萎陷素是从鸡细胞分离出来的一个可溶性信号素。

号素位于生长锥沿着它生长的神经元亚群轴突和非神经元细胞上。

我们再回到蚱蜢胚胎神经系统的特殊类型神经元，作为信号素引导生长锥生长的例子。这些称为 Ti1 先锋神经元的神经元的胞体，位于蚱蜢的肢芽，在发育期间，它们的轴突从周围伸向中枢神经系统（图 15-12a）。当轴突生长刚刚离开细胞体时，它们计划的行程为直接朝向中枢神经系统。但在它们行程的某一点上，它们遇到了一层在背腹方向伸展的上皮细胞。这些上皮细胞的表面有叫做 G-sema 1 的信号素。生长中的轴突不能越过这个上皮细胞屏障。代之，生长中的轴突接触到这些细胞的表面时停止生长，然后沿着信号素细胞的远侧缘转向腹侧生长。只有当轴突的丝状伪足接触到另一种神经细胞类型 Cx1 时，生长中的轴突才能跨过上皮细胞，向中枢神经方向行进（图 15-12a）。

当 Ti1 细胞的生长锥遇到上述细胞时发生的生长方向的改变，可归咎于上皮细胞表面具有的 G-sema 1。例如，在轴突向外生长时期，应用抗 G-sema 1 的抗体对这些细胞作用，可阻止这些分子和生长锥相互作用。在这种情况下，生长中的轴突就能直接跨过上皮细胞带（图 15-12b）。

从膜结合信号素向它接触的邻近细胞传递的信号性质仍是个谜，但从另一个叫做**萎陷素**（collapsin）的信号素研究中，得出一个重要的线索。萎陷素是可溶性信号素之一，它和其他膜-结合物的共同之处是含有一个大的信号素结构域（图 15-11）。但是萎陷素

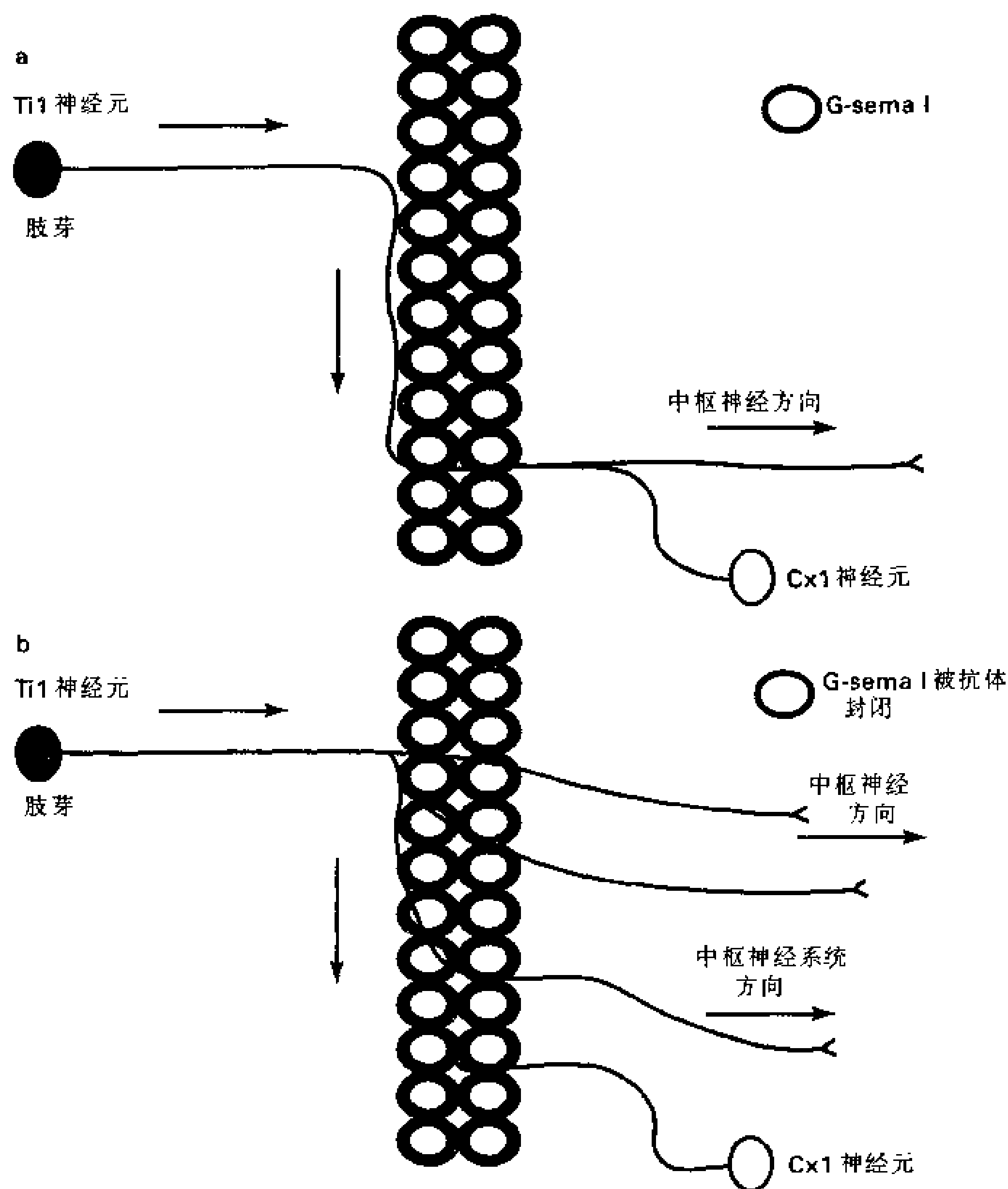


图 15-12 轴突的引导被黏附分子抑制。a：蚱蜢神经系统中，肢芽中的 Ti1 神经元发出轴突走向中枢神经系统。当轴突遇到一层表面带有 G-sema 1 的上皮细胞时，轴突向腹侧转变方向，直到遇到 Cx1 神经元的突起，在该处轴突跨过 G-sema 1 屏障。b：预先用抗 G-sema 1 的抗体孵育细胞，中和它的抑制作用，轴突就能跨过上皮细胞。

含有一个免疫球蛋白 C2 型的结构域以代替跨膜节段。当对鸡胚感觉神经元生长锥应用萎陷素时，引起肌动蛋白细胞骨架的崩溃。正如预期的那样，这种生长锥的板状伪足的崩溃，阻止了轴突的进一步延长。因此，信号素的作用之一可能是抑制某些细胞的生长锥的延长及黏附。

其他一些实验证明，有些神经元在接触某些其他神经元的轴突或胶质细胞后，迅速地缩回它们的生长锥。例如，哺乳动物的神经元的神经突起通常不能在少突胶质细胞或髓鞘膜表面上延长。这看来是由于在胶质细胞表面存在着能选择性防止神经元生长锥黏

附的蛋白。应用抗这些细胞表面蛋白的抗体，像应用 CAM 那样阻碍神经突起生长，而是中和抑制作用，使轴突在胶质细胞膜上活跃地生长。研究那些使特异性膜不允许轴突生长的蛋白性质，很可能是未来很有前途的研究领域。

经过可溶性因子的细胞-细胞间通讯

神经元表面的受体对不同的固定的细胞外和细胞膜蛋白的辨认和结合，与神经递质或激素和它的受体的互相作用有许多类似之处。这就不奇怪为什么可溶性因子，甚至神经递质本身可影响神经突起生长。可溶性生长因子对轴突生长的数量和方向作用的早期例子，来自神经营养因子 NGF。如同我们在第 14 章见到的那样，交感神经节神经元和后根节的感觉神经元对 NGF 敏感，当这个因子存在时，神经突起就大量地向外生长。应用 NGF 的方向可改变生长锥反应的方向。例如，把一支含有 NGF 的移液管放入一个含有感觉神经元的培养皿中，使 NGF 缓慢漏入培养基，在培养皿中形成 NGF 梯度。于是可以看到神经细胞的轴突改变它们的生长方向，朝着移液管的尖端延伸。把 NGF 注入新生大鼠的脑内，出现交感神经节的神经突起朝着注射的方向异常生长。可溶性物质

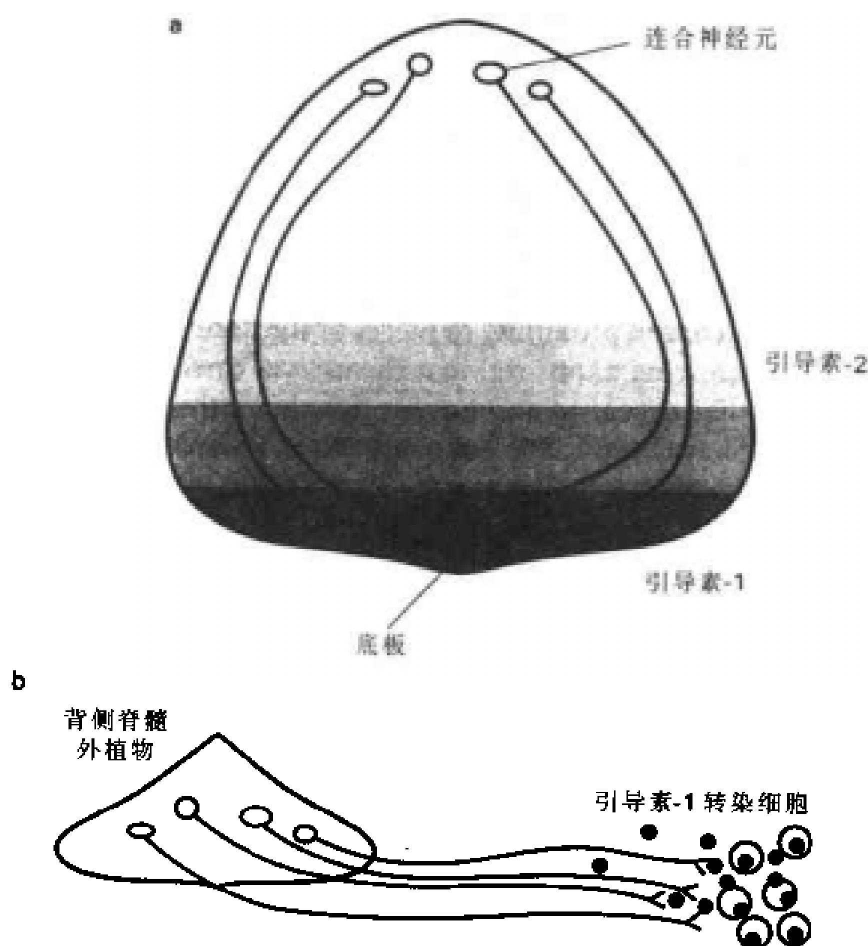


图 15-13　引导素诱导脊髓连合神经元轴突的生长。a：连合神经元轴突正常的走行方向为走向底板。b：连合神经元的轴突被一背侧脊髓外植物诱导走向用引导素-1 转染的细胞。

引起生长锥改变运动方向，朝着含有该物质较高浓度的方向移动，称为具有**化学营养**（chemotrophic）作用，或**化学趋化剂**（chemoattractant）作用。因为在发育过程中，感觉和交感神经元的轴突仅在它们已经建立轴突通路以后，才依赖 NGF 的营养作用，NGF 本身在神经系统中不像是一种化学营养物质。然而，有证据显示另一种可溶性因子**引导素**（netrins），可通过它们化学趋化的性质，引导轴突的生长。

引导素：扩散性化学营养因子　　已知化学营养因子在脊髓发育时开始起作用。有一种称为**连合神经元**（commissural neurons）的神经元，在脊髓的背部分化，朝着脊髓腹侧以固定的型式发出轴突（图 15-13a）。在脊髓腹侧中线上有一个上皮细胞组成的结构，叫做**底板**（floor plate），它位于脊髓的全长，并伸入到脑髓。从底板释放的化学趋化分子，引导围绕脊髓周围的连合神经元的生长中的轴突向腹侧生长。将背侧脊髓的移植块放在底板的附近即能证明这点。在这样的移植组织中，生长中的的轴突重新确定它们的走向，朝向底板细胞生长。

这种起化学营养性引导作用因子已经纯化，并被命名为**引导素**（netrins，netr 为梵文，意为“引导者”）。如同我们在第 7 章中叙述的肽类神经递质那样，引导素为首次带信号序列被合成，该序列允许它们进入分泌通路；信号序列在合成后很可能被截短（见图 7-6）。引导素分子的剩余部分和细胞外基质层黏蛋白的 B2 链的一部分非常相似（见图 15-6）。如同层黏蛋白的 B2 链一样，引导素含有几个 EGF 的重复部分及精氨酸-甘氨酸-天门冬酸（Arg-Gly-Asp）氨基酸序列，该序列是许多整合素受体的辨认信号（图 15-14）。

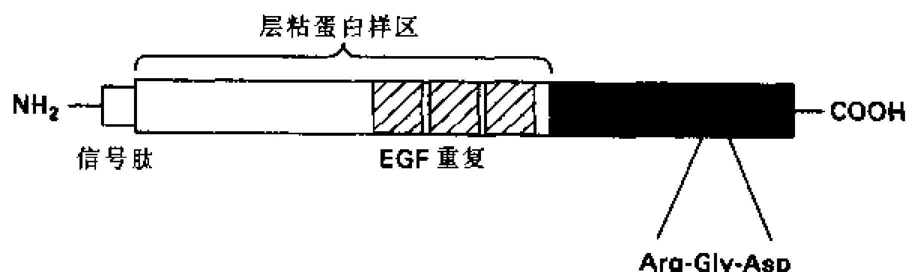


图 15-14　引导素的结构。

脊髓内有两种已知的引导素。引导素-1 仅存在于底板细胞本身，而引导素-2 可散在见于脊髓腹侧半的许多部位（图 15-13a）。当应用于背侧脊髓移植物时，两种引导素均能刺激神经突起的生长。生长的方向取决于引导素的来源。例如将引导素-1 基因转染肾脏细胞株，能产生人为的引导素分泌。当把这种转染了引导素的细胞团放在背侧脊髓移植物附近，分泌的引导素-1 可引起轴突生长方向的改变，转向转染细胞的方向生长（图 15-13b）。

引导素的实验得出的图像是生长锥可能优先沿着化学趋化剂的梯度生长。其他中枢神经通路也存在生长中的轴突受化学营养因子引导的证据，第一个被描述的引导素是 UNC-6，它是在线虫的遗传研究中发现的。但和引导素相互作用的受体蛋白还不清楚，需要进一步的遗传学和生化学研究，来发现这些化学营养物质的作用所必需的其余的分

子成分。

神经递质对生长锥的调节 应用神经递质，甚至诱发轴突的电活动，均可改变神经突起的生长。图 15-15 说明神经递质五羟色胺对软体动物 *Helisoma* 已知神经元的作用。将这个称为 B19 的神经元，放在通常能生长神经突起分支的细胞培养皿中。当将五羟色胺作用于生长中的细胞时，神经突起的延伸突然终止，引起生长锥的板状伪足消失。反之，不含有五羟色胺受体的细胞生长，不受这种递质的影响。

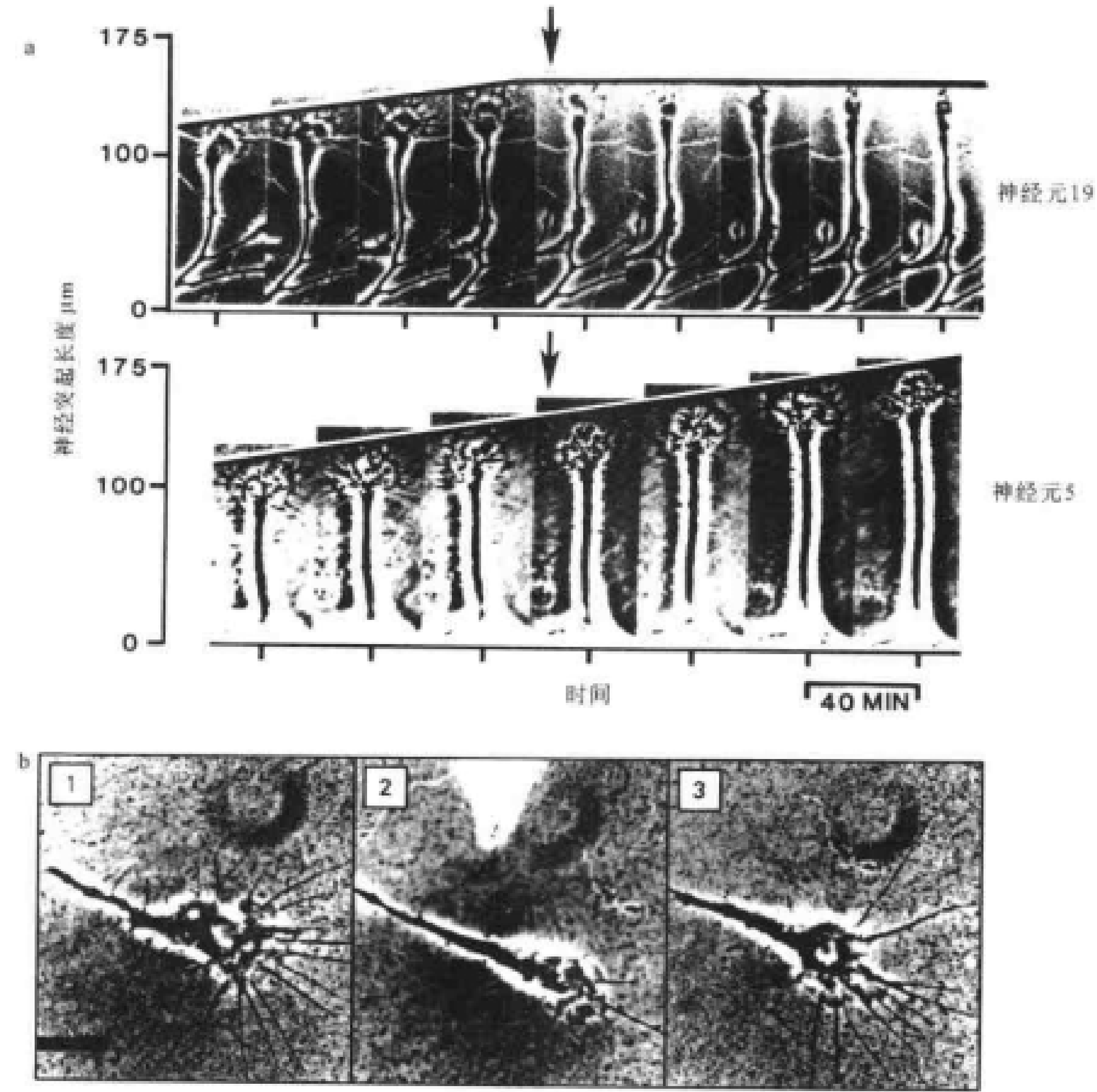


图 15-15 生长锥被神经递质抑制。a：Ben Kater 及其同事们的实验显示，用五羟色胺作用于软体动物 *Helisoma* B19 神经元可抑制它神经突起的生长。B5 神经元不受五羟色胺的影响。b：当用外部移液管应用五羟色胺时，也抑制分离的 B19 生长锥（2）。当去除五羟色胺时，生长就恢复（3）（Haydon et al., 1984）。

神经递质对神经突起生长的调节可通过生长锥本身的受体，不需要来自胞体的信号。在紧靠生长锥前方的部位切断神经突起，可将生长锥和细胞的其余部位分离（图

15-15b)。有趣的是，这些游离的生长锥在和它们的胞体分离后，继续沿着基质生长相当一段时间。从 B19 神经元游离的生长锥，当它们接触 B19 细胞时，产生对五羟色胺同样的反应，提示五羟色胺的抑制作用是发生在生长锥本身的一种局部的反应。

神经递质对生长锥不总是表现为抑制作用。应用肽类 P 物质，或 cAMP 类似物，在某些培养的哺乳动物神经元中可刺激轴突的生长。甚至，神经递质对生长锥的生长路径可能也有化学营养作用。例如，当青蛙脊髓的胚胎神经元暴露在由附近移液管加入的微量乙酰胆碱梯度时，它们的生长锥总是转向移液管的方向。用钙指示剂 fura-2 荧光素（见第 8 章）的实验表明，生长锥的数量或方向的改变和生长锥内细胞内钙的水平有关。有一种设想为，生长锥的正常生长，仅出现于生长锥中钙离子浓度在允许生长的浓度范围内的情况下。神经递质改变了细胞内钙水平，使其进入或超出这个允许的范围，从而刺激或抑制生长锥生长。同样，电活动本身也能使钙通过电压依赖性钙通道内流而影响神经突起的延伸。例如，直接电刺激 B19 神经元可阻止轴突延长。因为多数研究是在细胞培养的神经元上进行的，所以在整体神经系统中神经递质和电刺激对轴突生长的相应作用尚未证实。但是这些似乎不影响当建立突触接触时最后分支的类型。

生长中轴突的生化性质

蛋白酶分泌　　在发育中的完整组织内，生长中的神经突起要到达它们的靶区，必须穿过其他组织，造成通过细胞外基质的通路。为了有助于这个过程，生长锥似乎分泌一种**蛋白酶**（proterase)，部分地消化细胞外基质的蛋白质。下面的方法很容易证明这点，在细胞培养皿上涂上一层蛋白质。例如纤连蛋白、层黏蛋白或明胶，它们经过化学处理加入了荧光素。蛋白的降解可在细胞和生长锥的附近因荧光减少而探测到。当然，蛋白酶的释放必须是有选择和受控制的，因为正如我们看到的那样，许多细胞外的蛋白质对细胞的黏附是重要的。另外，除了有助于生长锥的机械性推进外，可能这些细胞外的蛋白水解起到细胞到细胞的信号作用，触发一个细胞经由生长锥和另一个细胞接触后的继发反应。

GAP-43 的合成　　一个被强烈怀疑能影响轴突生长能力的令人感兴趣的蛋白质是**生长相关蛋白** GAP-43，它是一个短的 43 kDa 的**生长相关蛋白**（growth-associated protein)。哪些证据证明 GAP-43 和神经元生长有关？当轴突分支延伸时，细胞体合成蛋白质，然后运输到发育中轴突的顶端，这种蛋白质类型和完全发育后神经元合成的蛋白质不同。图 15-16 说明仓鼠视网膜中新合成的蛋白质类型，沿着神经元轴突运输。向视网膜内注射放射性氨基酸后这些蛋白质被标记。4 小时后，在**上丘**（superior colliculus）中可被探出，上丘是接受来自视网膜突触传入的脑区。哺乳动物从视网膜到上丘的通路很像低等脊椎动物的视网膜顶盖通路，该通路将在下章中叙述。凝胶电泳的二维蛋白分离显示，在二日龄动物，有几种蛋白质的含量，比成年动物有的更高，有的则较低。其中的一个蛋白质，尤其是 GAP-43，在生长中细胞的含量很高。但在生长的最活跃期后数周，降低 90％以上。

GAP-43 为高酸性蛋白质。在许多不同神经元通路的轴突延伸时期，GAP-43 的合

成和传递速率很高。培养细胞的轴突生长受到例如 NGF 等的刺激时，GAP-43 是被诱导合成的蛋白质之一。而且，当哺乳动物神经系统的某一通路被切断时，GAP-43 的合成可能被显著地激活。这仅在神经通路再生的情况下出现，但在无再生的束路上见不到。这些发现提示 GAP-43 可能是神经突起生长过程中的重要成分。

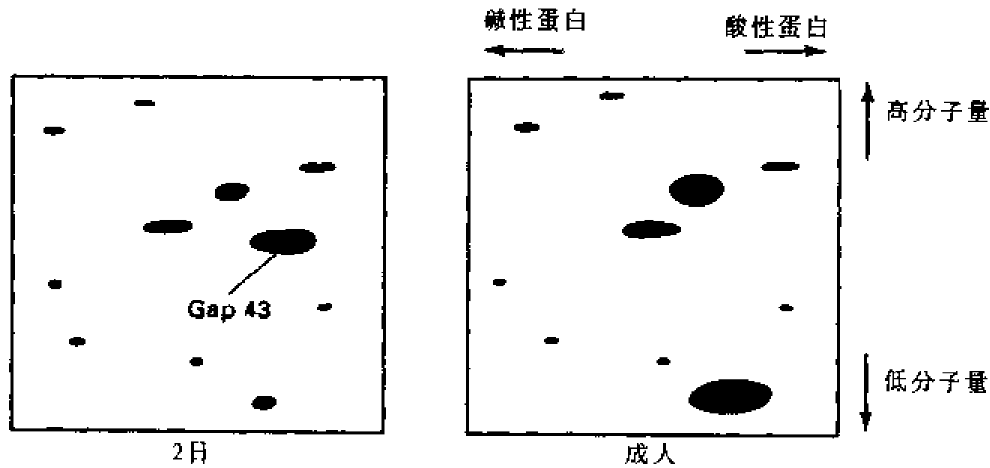


图 15-16 GAP-43。显示在二日龄和成年仓鼠的视网膜中，新合成的蛋白质沿着视网膜节细胞轴突的二维分离（Benowitz 和 Routtenberg，1987）。

发育中的轴突生长锥中也含有 GAP-43。用离心技术能得到高度纯化的生长锥，而 GAP-43 是这种制备物的主要成分。从编码蛋白质的 DNA 克隆的 GAP-43，它的主要结构不含整合膜蛋白（integral membrane protein）的疏水性序列特征。但 GAP-43 可能和生长锥浆膜的内面紧密连合。甚至将 GAP-43 导入非神经元细胞可促进丝状伪足及类似神经突起的细胞突起的延伸。在发育的整个过程中 GAP-43 并不完全消失，并在成年脑的某些部位容易检测到。GAP-43 是一个磷酸蛋白，能被蛋白激酶 C 磷酸化。因此，这个令人感兴趣的蛋白质可能在成年神经系统的可塑性变化中起作用（见第 18 章）。

小结

发育中的神经元发出神经突起，成为成熟神经元的轴突及树突。这些神经突起沿着特定的通路走行并以特殊的方式分枝。神经突起的最前端为生长锥，它似乎对细胞外的环境进行试探，并决定神经突起延伸的方向。

不同类型的分子对生长中的神经突起寻找适当的途径是必不可少的。例如，神经突起的生长选择性地朝向或离开某些可溶性因子，包括引导素及神经递质。另外，不同的黏附分子也起着重要作用。这些黏附分子包括神经突起膜及细胞外基质中的蛋白分子，它们介导神经突起特异性地黏附在基质上，并在基质上生长。其他的膜蛋白促进不同细胞的神经突起彼此以特殊型式黏附。某些调节神经元发育及分化的分子和机制，在神经元损伤后的恢复期，或对环境中的新刺激起反应时，也可能参与成年神经系统神经突起的生长。

16

化学突触的形成、维持和可塑性

随着细胞的定型和神经突起的延长,发育中的神经元形成特定的突触联系,这种突触联系对脑功能是必不可少的(图 14-1)。突触形成的一个特别突出的特征是它对发育中通路的电活动模式极度敏感。我们将阐述发育期的突触发生学和电刺激模式对未成熟神经元的引导作用。但是,突触发生学并不仅仅局限于发育中的神经系统,我们已经提示过在成年动物的神经系统内也存在神经元形态和功能的重组,事实上,成熟神经元保持重新调整突触联系的大多数机能,这种机能的机理与发育期的作用机理相似。因此,我们也将提供一些成年神经元的突触可塑性的例子。最后,我们将描述当突触接触建立后,细胞特性发生的某些变化。

发育期的突触发生学

突触形成期的形态变化　当生长中的轴突到达它们将最终形成突触接触的细胞的时候,它们的生长锥的形状发生改变(图 16-1)。作为快速生长的特征的板状伪足萎缩,在神经突起的顶端伸出不规则的丝状伪足。生长锥外形的这些变化与神经突起延长速度减慢有关。当生长锥最终接触到它们将与之形成突触的细胞时,将发生进一步结构变化。

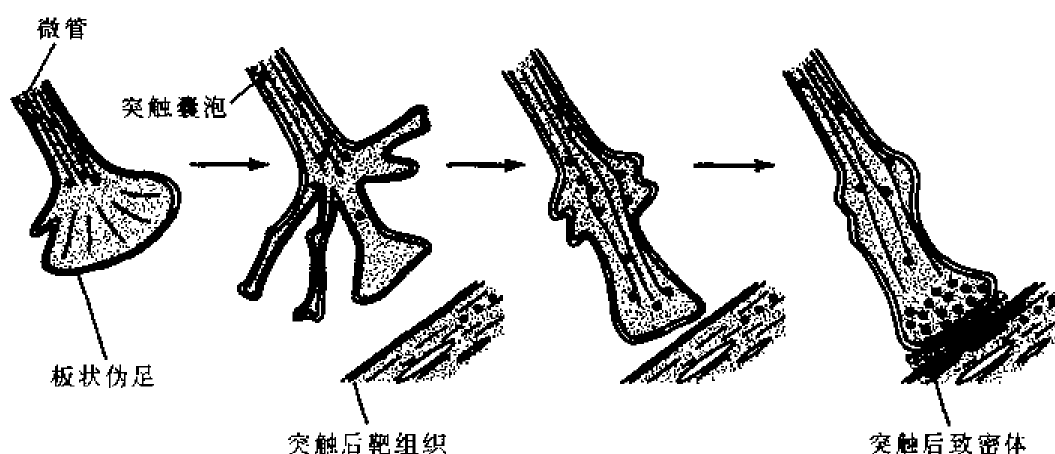


图 16-1　突触的形成。生长锥向突触前终末的转变。

当神经递质小泡从中心区推进到神经突起的顶端时,板状伪足和丝状伪足消失。随着物质在突触间隙聚集和突触后膜增厚形成**突触后致密体**(postsynaptic density),生长锥与靶

细胞的接触点转变为成熟的突触。然而,功能性突触联系在神经突起刚刚接触到突触后细胞即可出现。实际上,细胞培养实验已证实,延长中的生长锥甚至具有释放神经递质的能力。

如第 7 章所述,有些神经元并不与靶细胞直接接触,不形成专门的突触接触,而是通过局部释放神经递质影响相邻细胞。当这些细胞的轴突到达它们的最终目的地时,它们的终末也肯定发生某些改变。不形成突触的神经终末的形态学改变的例子如图 16-2 所

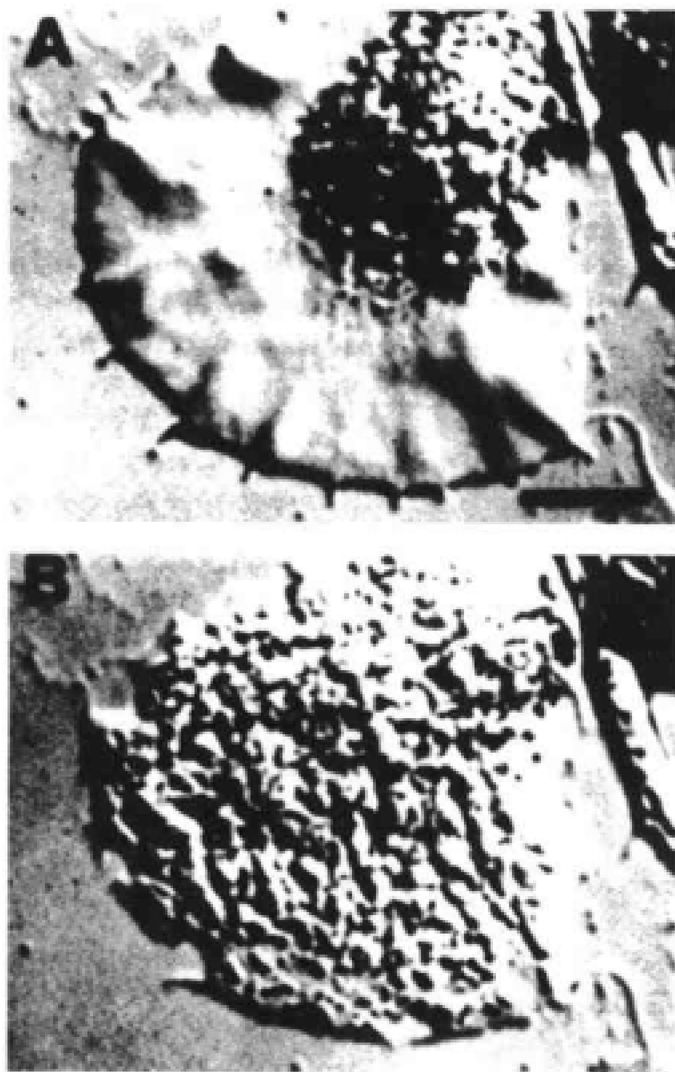


图 16-2 细胞培养中生长锥的结构变化。提高 cAMP 水平的药物处理前(A)和处理后(B)的海兔神经元生长锥照片(Forscher et al., 1987)。

示,培养中的一个 海兔袋神经细胞的生长锥随着 cAMP 水平的升高发生结构改变。微管和中心区的其他细胞器侵入富含肌动蛋白的板状伪足,形成充满分泌颗粒的棒状末梢。虽然能在细胞培养中实验性地诱发这种改变,但是 cAMP 等第二信使在神经系统生长锥的类似变化中是否起作用仍不清楚。

究竟是什么决定了对突触后靶组织的选择　　生长中的轴突与靶组织的相互作用的特异性如何？例如，运动神经元的轴突能否与任何肌肉细胞形成突触，或者轴突是否对一个特定的肌肉细胞或一小群细胞有严格的一对一的识别能力？在许多情况下，似乎突触形成原本是没有选择性的。切断运动神经元的轴突可使它们形成的突触脱离并溃变。在这样的情况下，失神经支配的肌肉可轻易地被其他的运动神经元重新支配。不仅如此，在细胞培养中，神经元能与在完整的神经系统内它们不接触的其他神经元或肌肉细胞形成突触。

我们将会看到，发育中的大脑内突触的形成常常出现于两个截然不同的时期，这一发现使我们对突触如何形成了解得更清楚。在突触形成的早期，选择性相对不高；随后的第二个时期持续时间较长，此时期内有的突触稳定下来，有的突触被清除。正是在第二个时期内对接触的精细的调整和修补，使突触联系形成高度有序的最终模式。

突触形成的两个时期　　突触形成的第一个时期与我们在以前章节讨论过的神经寻路的过程密切相关。一个延伸中的轴突不会和它所经的路径上的任何细胞形成突触，因此，当它到达与之形成突触的适当的靶组织时，必须产生一些信号告诉生长中的细胞减慢生长速度，接触突触后细胞和形成突触终末。一般来说，这一信号的性质还不清楚，但可能与通过细胞与细胞接触调节细胞相互作用的分子有关。例如，果蝇的基因研究提示，粘附因子**束素**(fasciclin)家族成员之一对某一类型运动神经元辨认作为特异靶组织的肌肉细胞起作用。这一突触形成的初始时期可命名为**靶选择期**(target selection)。从哺乳动物脑的突触形成的具体例子中，我们将会看到，这一初始时期可能产生与成体所见的最后类型相比相对“粗线条”的突触联系。第一个时期的另一特征是，它通常不依赖于生长中的神经元内的进行性电活动。因此，即使使用了海豚毒素等阻断神经元动作电位的药物，靶选择性通常仍然存在(见第4章)。

突触形成的初始时期之后是第二个时期，有时把第二个时期称之为**位置选择期**(address selection)。在第二个时期发生的主要变化是重塑突触联系的原始模式。早期的突触接触可能发展或回缩，以及可能完全消失。一个神经元的突起从一个突触后细胞回缩后，可能和另一个细胞形成更加稳定的突触。由于第二个时期的存在，发育期的突触形成是一个相对长期的过程。例如，在哺乳动物脑内形成的突触的数量可能在出生后长达数周至数月内一直在增加，此后，突触总数减少到成年水平。而且，在有些情况下，在成年期内的突触仍在持续形成和崩解。

正如后面将要谈到的，在第二个时期，突触联系的精细调整似乎很大程度上是由于不同的轴突竞争同一个突触后细胞。这种调整过程的另一个非常重要的方面，是它依赖于发生在突触通路内的电活动模式，而且完全由这种电活动模式塑型。电活动非依赖性(第一个时期)和电活动依赖性(第二个时期)机制促成突触靶组织的最终选择的途径，研究得最彻底和最清楚的例子之一，可在脊椎动物如蛙、鱼和鸟的视觉系统中找到。

视觉系统的突触形成

视网膜顶盖系统　　在许多低等脊椎动物，来自**视网膜**(retina)的大部分神经投射沿

视神经到达中脑的一部分，称为**视顶盖**(optic tectum)。这条通路控制这些动物的许多快速视反射。它吸引发育生物学家的极大关注的一个特点是，视网膜不同部分的传入与顶盖表面相应的点形成严格的点对点投射。这种投射模式很容易通过光照视网膜的一点而在顶盖记录到电生理反应得到验证。如图 16-3a 所示，刺激背侧视野(腹侧视网膜)引起背侧顶盖反应，而刺激腹侧视野引起腹侧顶盖的反应。同样地，感应颞侧视野光刺激的视网膜神经元(前部视网膜)与顶盖后部神经元形成联系，而感应鼻侧视野光刺激的神经元投射到顶盖的前部。

突触形成第一个时期的化学亲和假说　　虽然投射到顶盖的突触联系最终排列非常整齐，但是视网膜神经元的轴突到达它们的最终目的地的途径可能不是直接的。生长中

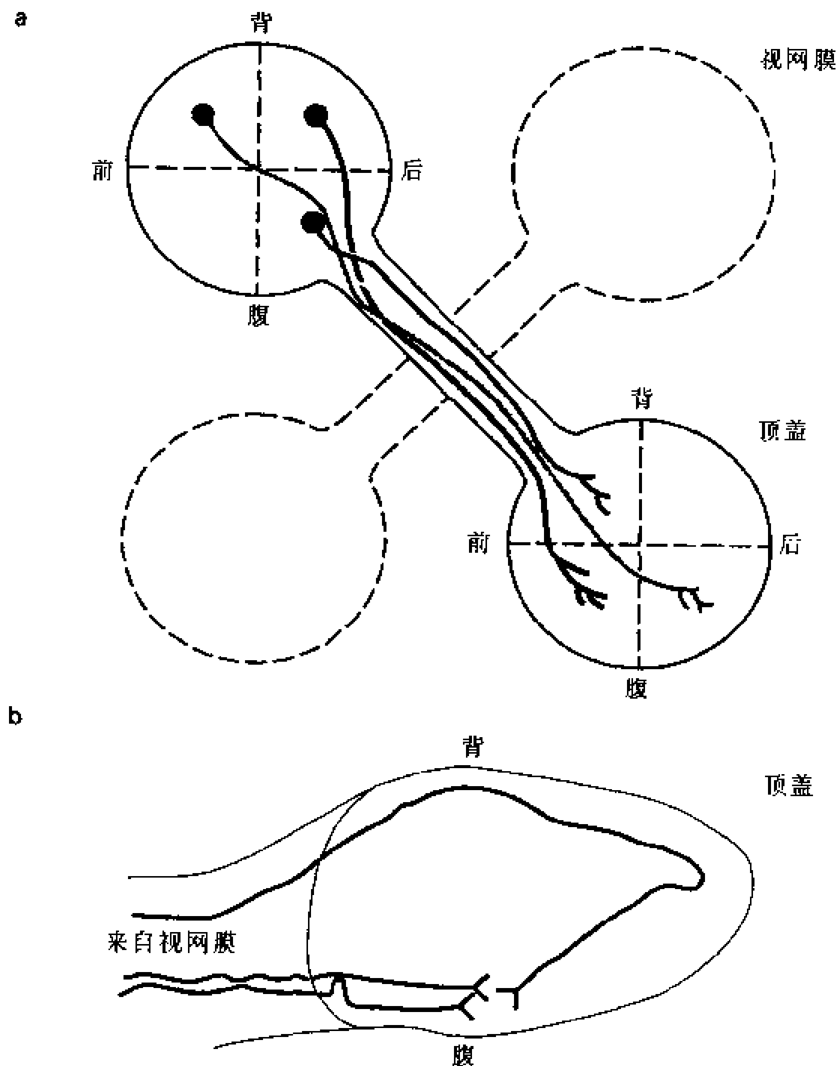


图 16-3　视网膜顶盖联系。a：视网膜顶盖联系的分布图。b：成年蝾螈的一个视网膜神经元轴突不规则地长入腹侧顶盖的示意图(Fujisawa, 1981)。c：Boenhoeffer 及其同事进行的实验：把取自后部和前部顶盖细胞的细胞膜带交替排列，视网膜细胞被放置在上面并长出突起，后部视网膜细胞回避后部顶盖细胞膜带(Walter 等, 1987)。d：Trisler 和 Collins(1987)测定视网膜和顶盖的 TOP 浓度梯度的实验结果。

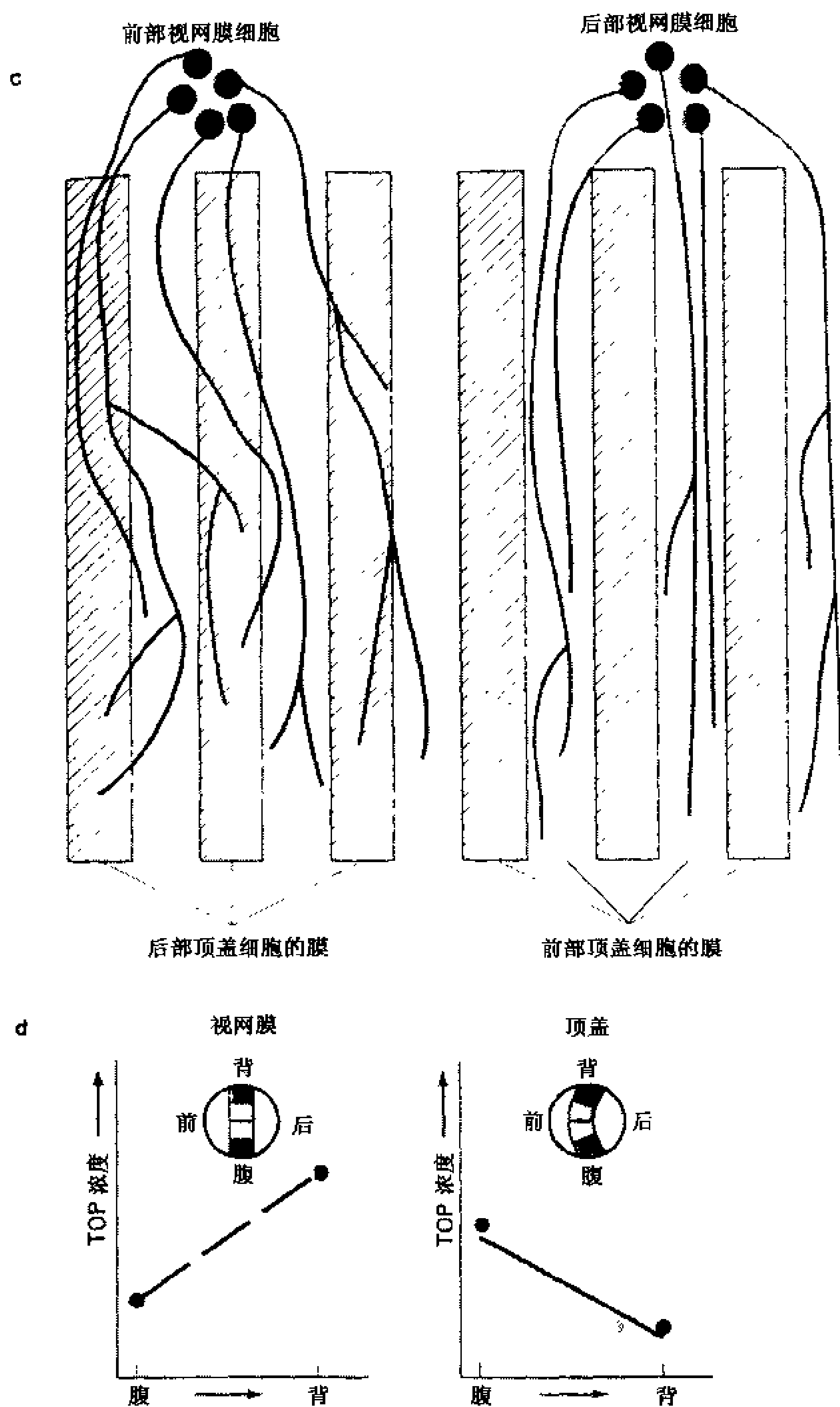


图 16-3(续)

的轴突在建立突触接触之前，可能会绕过顶盖内的许多潜在的突触后靶细胞(图 16-3b)。解释这种突触联系的特异性的主要假说是 Roger Sperry 的**化学亲和假说**(chemoaffinity hypothesis)。这一假说的最简单的表述是，在突触前和突触后细胞存在一种特殊的分子

(通常认为在细胞的表面),在顶盖的不同区域,这些分子或者化学性质不同,或者相对含量不同。这些差别构成了每个细胞的生物化学标记。突触的形成需要突触前和突触后标记相匹配,这可解释视网膜某一区域的细胞只与顶盖的对应区域的细胞发生突触联系这一事实。

大量实验支持化学亲和假说,有些使用手术方法处理顶盖的传入联系。例如,切断蛙的视神经并把眼睛旋转180°,视网膜细胞的轴突能及时再生及重新支配顶盖。在这些情况下,视网膜的细胞与它们以前支配的顶盖的同一部分形成新的突触联系,尽管现在由视网膜的特定区域向顶盖投射的视觉空间区域因旋转了180°而不同。而且,如果切除一半视网膜,剩余视网膜的细胞将再伸长轴突与顶盖的适当一半形成突触。初期这些轴突不会再支配顶盖的另一半,因为这另一半没有适当的标记。(然而,后而将要描述到,更加缓慢的突触联系的再塑型确实存在,最终剩余的这一半视网膜会支配整个顶盖)。

在培养皿中检测视网膜细胞和顶盖细胞的物理性黏附的实验,给有关视网膜细胞膜的分子可能决定了它们将要支配的顶盖区域提供了进一步证据。在该实验中,先分离视网膜细胞,然后与顶盖一起培养,发现背侧视网膜的细胞选择性地与腹侧顶盖结合,而腹侧视网膜的细胞则与背侧顶盖结合得更牢固。视网膜细胞的这种选择性黏附与它们最终形成的突触联系一致。

将上述实验作一些改变,把视网膜的小移植块置于分别取材于前部顶盖和后部顶盖细胞相间放置的细胞膜带条纹附近(图16-3c),当把一片前部视网膜置于这条纹状细胞膜"毯子"旁时,这片视网膜移植块长出的轴突会经过两种细胞膜带。相反,后部视网膜长出的轴突只沿着来源于前部顶盖的细胞膜带生长。有趣的是,这种趋向性来源于后部顶盖的细胞膜的排斥因子。加热或用蛋白酶处理后部顶盖细胞膜中和这种排斥作用,则后部视网膜细胞失去辨别后部和前部顶盖细胞膜的能力。

可能有几种因子排斥后部视网膜细胞的轴突,导致它们的生长锥崩溃。已确定的其中一种是33 kDa的糖蛋白,第二种是25kDa蛋白质,称为**轴突导向排斥因子**(repulsive axon guidance factor, **RAGs**)。这一蛋白质在顶盖呈梯度性分布,后部顶盖含量最高,已经证明视网膜细胞的生长对这种蛋白质的分布梯度很敏感。RAG蛋白是一种细胞外蛋白,通过细胞膜脂质磷脂酰肌醇,固定于顶盖细胞膜。正如预期的那样,在视网膜细胞内有一与RAGs蛋白相互作用的对应物质。这个对应物质实际上是属于Eph家族的另一种受体酪氨酸激酶。

视网膜和顶盖的其他物质的分布也呈梯度性。RAG属于名为**Eph家族配基**(Eph-family ligands, **EFL**)的蛋白质家族。EFL家族的另一成员——EFL-1在顶盖的分布,也呈现从前到后含量越来越高的梯度。这种EFL的一种Eph受体在视网膜也呈现相应的梯度分布。而且,与这一特定的配基——受体家族无关的蛋白质也呈梯度性分布。例如,应用对视网膜不同区域的单克隆抗体发现了一种蛋白质。其中一种抗体结合的一种47 kDa的膜糖蛋白在视网膜的背侧含量很高,而腹侧含量很低(图16-3d)。该蛋白质在顶盖也呈相应的梯度分布,即腹侧含量最高,背侧含量较低。由于这一蛋白质呈**局部定位分布**(topographical distribution),而被命名为**TOP**。虽然TOP是标记来自不同区域的视网膜细胞的分子的良好候选者,但是目前仍未有任何证据证明TOP在突触的形成中是否起作用。

突触连接的重新排列

视网膜顶盖系统内突触形成的第二个时期　我们已经提到过，突触形成的过程分为两个时期。一旦长入的轴突与靶细胞形成初步连接（可能通过黏附因子和排斥因子的引导作用），接着就进入第二阶段较长时间的突触调整或**分检**（sorting）期。在这一时期，有些末梢出现分枝，它们和顶盖细胞的突触接触可能退缩，而与此同时，来自别的视网膜神经元的突触联系可能得到加强。虽然视网膜顶盖通路的突触联系的重塑在发育早期最明显，但是很显然，在某些情况下，在整个成年期突触重塑可持续存在。

突触的持续性调整的特别明显的例子出现在蛙和金鱼身上。在这些动物体内，随着新的细胞的加入，其视网膜和顶盖不断变大。在眼睛内，新增的神经元在视网膜的周边形成新的环。顶盖则相反，新增的细胞仅加入顶盖的后部（图 16-4）。因此，为维持从视网膜到顶盖联系的正确投射，来源于视网膜的所有突触不断地退缩和再连接到新的顶盖神经元。金鱼的视网膜和顶盖持续增大，因此，整个成年期都在重新排列它们的突触联系。

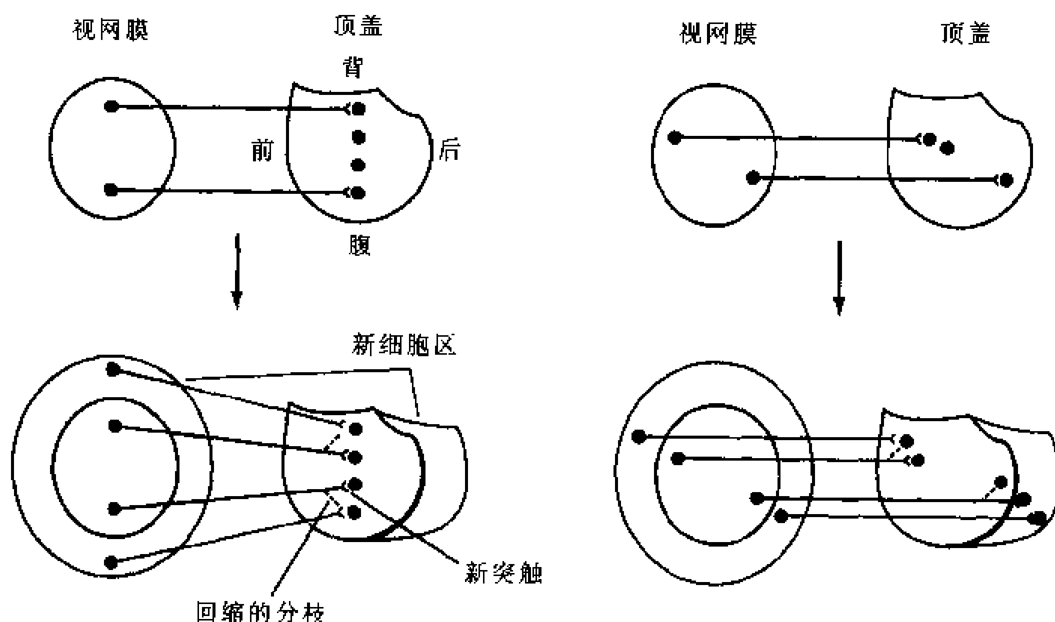


图 16-4　新细胞加入时突触连接的重塑。随着视网膜和顶盖的增大，突触连接断离和重建，以维持视网膜对顶盖的整体定位投射。

在前面谈到的实验中，切断视神经和切除部分视网膜也肯定会使突触联系的模式发生改变。在损伤后早期，剩余视网膜细胞的轴突仅再支配未被切除的视网膜细胞相应的顶盖投射区域。然而，随着时间的推移，这些轴突的分枝遍布整个顶盖区并形成突触。通过这种方式，剩余视网膜代表的视野的投射区扩大，遍布整个顶盖。

神经元的电活动决定突触连接的最终模式　有关顶盖和发育中的神经系统的许多其他部分的研究有力地提示，突触联系的精细调整取决于突触前神经元的电活动模式。特定的突触后细胞初期可能接受许多不同的突触前细胞支配，然而，看来只有其电活动与

突触后活动在时间上相关的传入才会稳定下来(图 16-5)。产生较弱的反应,或者根本不能对突触后细胞产生影响的纤维形成的突触接触将会退缩。然而这些退缩的纤维可能会成功地刺激别的突触后细胞,并与这些细胞建立新的稳定接触。

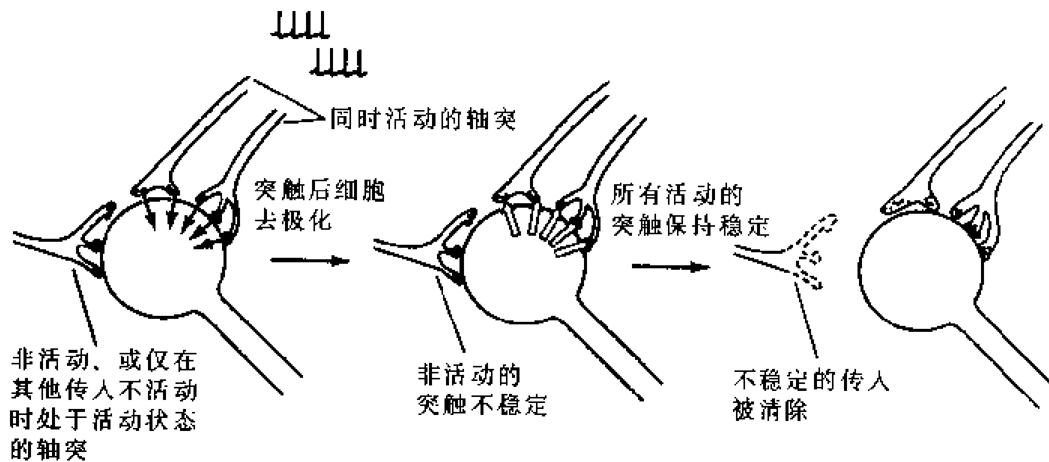


图 16-5 Hebb 氏法则。成功激活突触后神经元,或突触后神经元去极化时处于活动状态的兴奋性突触,被选择性地保持稳定(Hebb,1949)。

1949 年,加拿大病理学家 Donald Hebb 提出假说:当兴奋性突触成功诱发突触后细胞的动作电位时,突触就会保持稳定。这一假说已应用于发育和学习的模型中(见第 18 章)。换言之,当突触后神经元去极化时,会产生生物化学反应或营养因子,从而稳定此时正在发放传入传动的兴奋性突触。这一假说的一个重要方面是,一个细胞的特定突触前传入冲动其本身的强度并不一定要足以引起突触后神经元的广泛去极化,才能使突触稳定。如果该传入冲动与许多别的传入冲动同时发放,而且它们的联合作用使细胞去极化,所有这些传入都将趋向于保持稳定。相反,如果冲动传入与别的多数传入不同时出现,这一传入趋向于被清除。虽然有关的营养因子是什么尚不清楚,但是这一基于突触活动模式而使突触保持稳定或被清除的一般假说,能解释关于突触形成和重塑的许多不同发现。

视觉优势柱　　在包括蛙在内的低等脊椎动物身上,来自一侧视网膜的全部纤维交叉支配对侧顶盖,因此,正常时蛙的一侧顶盖没有来自双眼的传入的竞争。然而,可以移植第 3 只眼睛到蝌蚪身上,来自第 3 只眼睛的纤维通常长入一侧顶盖,它们必须与来自正常眼睛的纤维竞争顶盖神经元的突触位置。通过向眼睛内注射放射性氨基酸,可以检测所形成的最终通路的情况。视网膜细胞摄取放射性标记物并转运到它们位于顶盖的终末,通过放置于顶盖切片表面的 X 射线胶片,可观察到这些终末的放射性强度(图 16-6)。该实验发现,建立的传入联系呈交替柱状排列,每一条柱包含的传入纤维主要来源于同一只眼睛。而在正常情况下,蛙和别的低等脊椎动物的顶盖不存在传入的这种柱状分布。

这种称为**视觉优势**柱(ocular dominance column)的柱状结构的形成,可理解为发生于正常发育过程中,基于突触的电活动而进行的突触重新分类排列(图 16-7)。因为一只眼睛的所有感光细胞指向视觉空间的同一区域,在该眼内的传入趋向于大致同步被激活。然而,另一眼感受一定程度上不同的视野,虽然来自该眼的传入冲动通常也会互有关联,

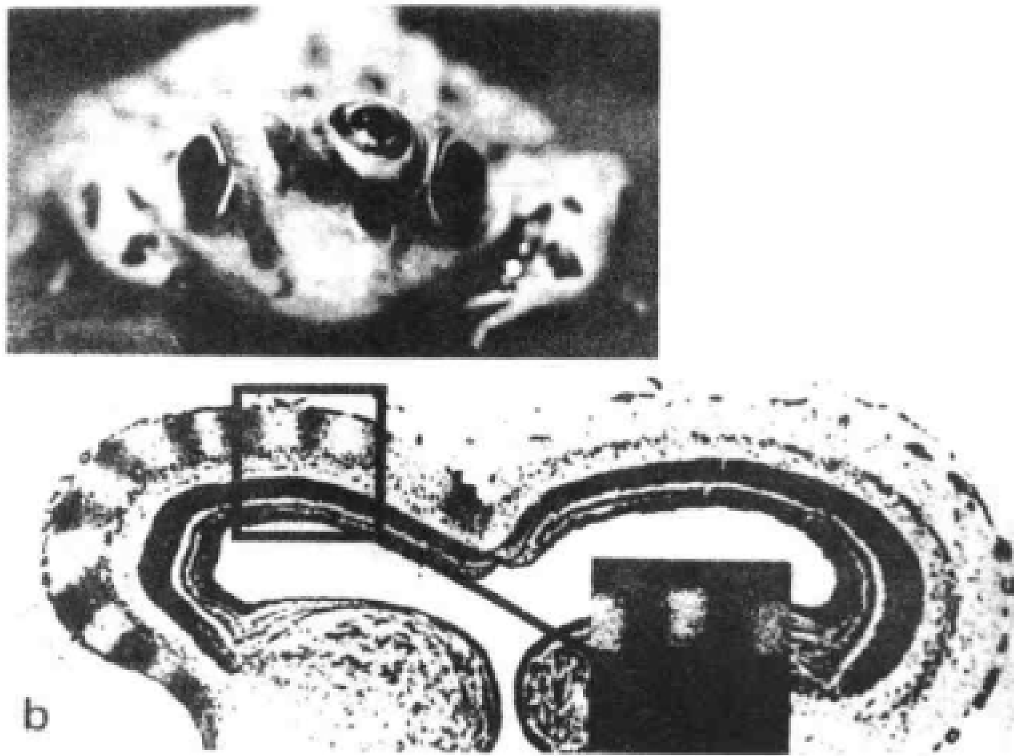


图 16-6 三眼蛙(three-eyed frog)。a:Martha Constantine-Paton 及其同事研究的三眼蛙。b:放射自显影术显示来自正常眼和移植眼的传入在顶盖处形成带状分布。插图表示暗视野下的放大图像(Constantine-Paton and Law, 1978)。

但是它们通常在竞争眼的冲动传入时不是处于兴奋状态。因此,顶盖的某一特定的小区域开始时由来自双眼的传入支配,然而,来自一只眼睛的冲动稍为增多,就会使来自该眼的几乎同时兴奋的突触传入保持稳定,而来自另一眼的传入退化。这样的稳定过程导致一只眼睛或另一只眼睛优先地支配的区域或柱的形成。

来自双眼的传入的分离正常也出现于哺乳动物的视觉系统,在哺乳动物的视觉系统,每一侧视网膜都发出纤维到大脑的两个半球。事实上,是 David Hubel 和 Torsten Wiesel 在小猫和猴身上进行的赢得诺贝尔奖的实验,首先提出了电活动模式塑造突触的重新排列的设想。对其中一眼或另一眼有优先反应的细胞层位于**外侧膝状体**(lateral geniculate),外侧膝状体是成年猫和猴的视觉中继站。在视皮层,来自双眼的传入间隔形成视觉优势柱。这些传入分类排列的机理与三眼蛙情况类似。开始时,膝状体和皮层的细胞相对均匀地由运载来自双眼的信息的传入纤维支配。在这一早期阶段,许多细胞均能接受来自任何一眼的传入刺激。但是,随着不断发育,突触崩解、重建和稳定,形成相间的视觉优势柱。

突触联系的这一间隔模式的形成不是先天具有的,而是依赖突触前纤维的电活动。许多方法能证实这一点。例如,用河豚毒素可以阻断动作电位,这一处理不会干扰原来的传入支配,但可以阻断随后发生的突触重新排列成柱状,导致来自双眼的突触前传入支配均匀地分布。在其他实验中,对双眼进行同步或不同步的刺激。例如,不同时刺激猫的双眼视神经,以致来自双眼的电活动不同时出现,就会产生视觉优势柱;然而,如果同时刺激

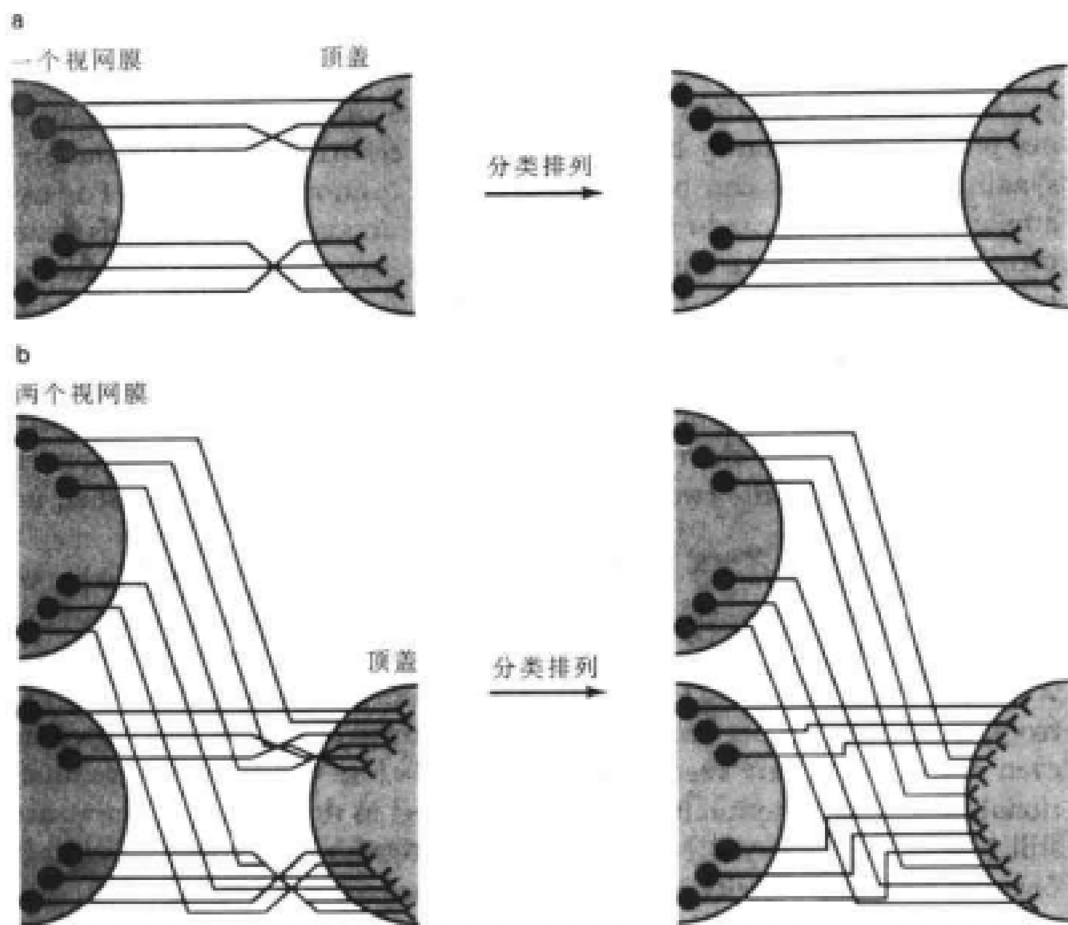


图 16-7 视网膜到顶盖的传入分离。a:只有一只眼传入的分类排列。b:第 2 只眼的传入存在时的分类排列。

双眼视神经,双侧突触前纤维的传入冲动相同,就不会出现分离现象。

我们在本书的前半部分强调过,许多神经元在缺乏外来传入的情况下能产生自发电活动。有趣的是,这种自发电活动可能在视觉系统完全具有功能前的突触分类排列方面起作用。在三眼蛙以及别的物种身上,即使动物是在黑暗中长大,或者视觉传入发挥功能之前,来自双眼的传入仍然能够产生分离。在这种环境下形成的视觉优势柱仍然能被河豚毒素阻断或逆转,表明持续的电活动是传入分离的前提。

有证据表明,在发育期间,谷氨酸的 NMDA 受体的激活与蛙的视网膜顶盖投射的选择性稳定有关,和更高级的脊椎动物的相关现象也有关。证据之一是,应用 NMDA 受体拮抗剂 APV(2-氨基-5-磷戊酸盐,译者注)不能阻断视网膜传入对顶盖细胞的刺激,但能使形成三眼蛙的视觉优势柱的分离现象逆转。如第 10 章所述,当一组传入冲动同步兴奋时,NMDA 受体的特性使其特别适宜于诱导细胞内的生化变化(见图 16-5)。例如,当几个以谷氨酸为递质的传入同时被激活时,突触后细胞会发生去极化。如果 NMDA 受体存在于这些突触,去极化使钙离子进入突触后神经元。据认为,这些钙离子随后激活的一些因子反作用于活动的突触前终末,从而稳定这些终末(图 16-8)。根据这一观点,非活动的突触不对这些因子反应,从而被清除。在本章稍后部分和第十八章,我们将讨论这些

逆向因子(retrograde factor)的可能作用。

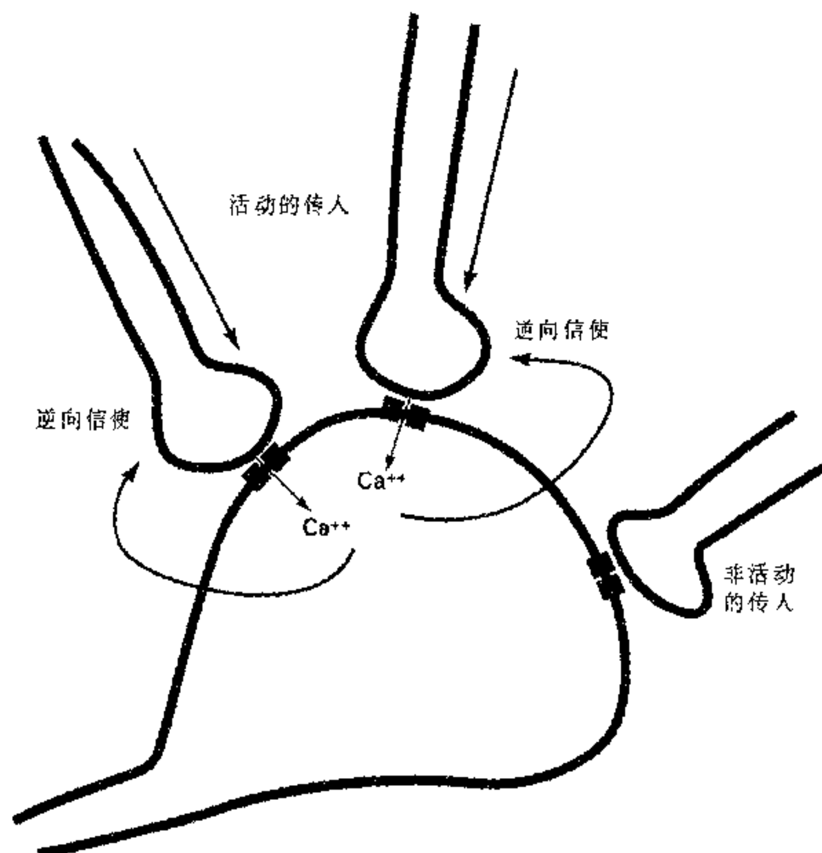


图 16-8　逆向信使的作用选择性稳定活动的突触前传入。

神经肌肉接头及其他系统的突触重新排列　轴突和树突分枝及突触连接的这种重塑不仅出现于视觉通路,而且出现于脊椎动物和无脊椎动物神经系统的许多别的区域,可能是一种普遍现象。另一个研究得很彻底的突触重塑的例子是脊椎动物的神经肌肉接头。当运动神经元的轴突首次接触到它们的骨骼肌靶区时,一根轴突的不同分枝接触几根肌肉纤维,而且,每一根肌肉纤维接触几个不同运动神经元的终末。这种情形称为**多神经支配**(polyneuronal innervation)。然而,数星期以后,许多分枝回缩。到成年时,最终每一根肌肉纤维只由一个运动神经元支配。突触的这种清除可从形态学和电生理学观察到。如图 16-9a 所示,在新生动物的神经肌肉接头处,突触前神经的梯度刺激在肌肉内产生梯度突触后电位。这是因为突触后反应由对几个突触前轴突的反应组成,而对神经的梯度刺激在越来越多的这样的突触前纤维上触发动作电位。但是在成年动物,对一个与肌肉发生接触的运动神经元的轴突的不同强度的刺激,或者触发动作电位,或者根本不能使它兴奋,导致全或无的突触后反应。

虽然在神经肌肉接头的发育过程中,从肌肉纤维清除掉轴突分枝及它们的相应突触可导致多神经支配的丧失,但是,其传入稳定下来的一根轴突的分枝所构成的突触终末的数量实际上增加了(图 16-9b)。就像在视网膜顶盖系统一样,神经突起分枝和突触的调

整取决于突触前终末的电活动。如果经药物作用于突触前轴突消除了电活动，如局部麻醉，突触的被清除和多神经支配的丧失就会明显减慢。另一方面，对突触前纤维的直接刺激可明显增加突触被清除的速度。

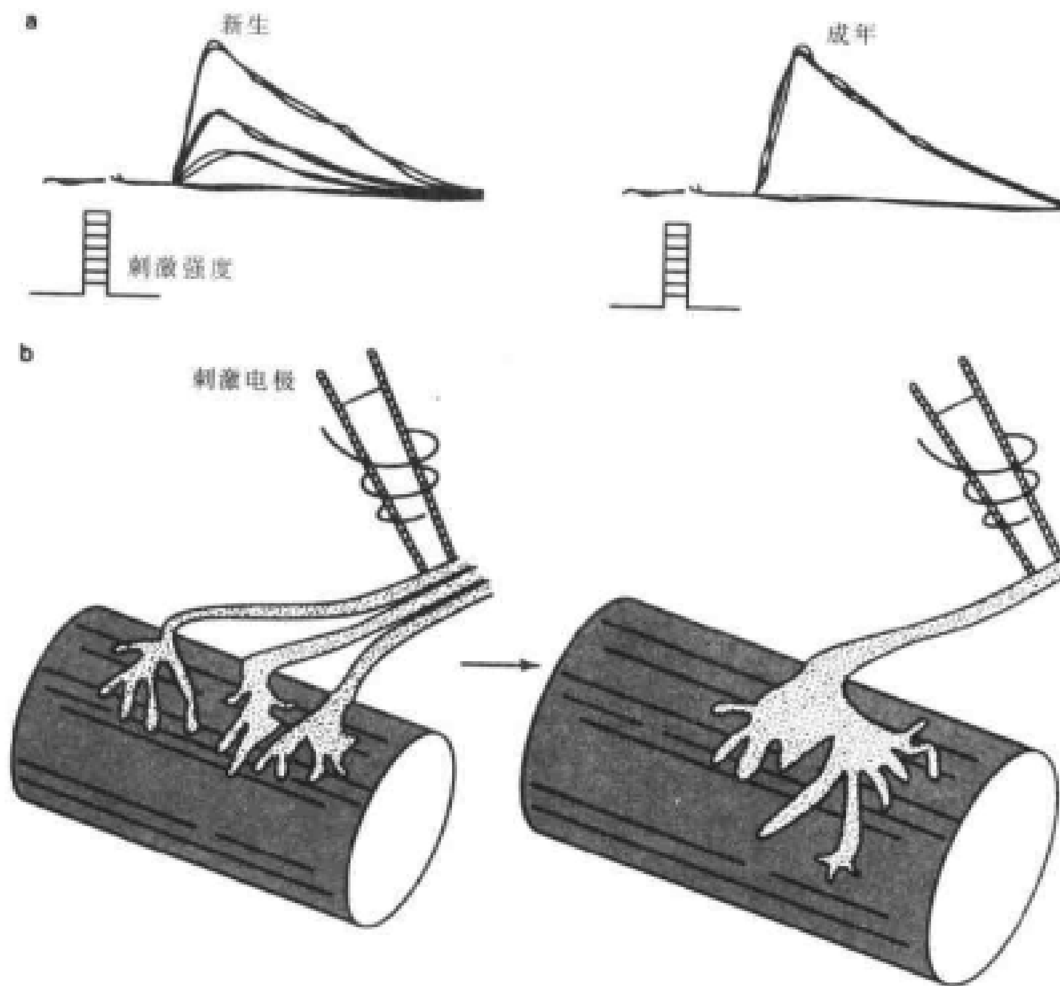


图 16-9 神经肌肉接头处的突触清除。a：在新生动物身上记录到不同大小的突触后电位，而对成年动物接头处的刺激只引起全或无的突触后电位。b：神经肌肉接头处的突触清除。

就像在视网膜顶盖系统一样，神经肌肉接头的突触稳定和清除的过程遵循 Hebb 法则。在培养的离体神经元和肌肉中，突触前和突触后细胞活动可严格控制，已用于深入研究电活动的作用。当一个离体的胚胎肌肉细胞由两个不同的运动神经元支配时，最初每一个神经元的单独刺激均足以在肌肉激发大量的突触后电流。假如对任何一个运动神经元的刺激均不是很频繁，那么两个功能性突触都可能在肌肉存在较长时间；但是如果一个神经元被刺激而发放一连串快速的动作电位（强直），另一突触的强度立即受到抑制（图 16-10a）。如果同时使两个运动神经元强直，这种**异突触抑制**（heterosynaptic suppression）就不会发生。通过附近的移液管给予脉冲式乙酰胆碱作用于肌肉，可模仿一个神经元的强直发放抑制其他非活动的神经元的突触传递的作用（图 16-10b）。如果当一个突触前神经元非活动时给予这种脉冲式乙酰胆碱，这个神经元形成的突触立即受到抑制。然而，如果给予乙酰胆碱时神经元正在发放动作电位，突触会受保护而不受抑制。

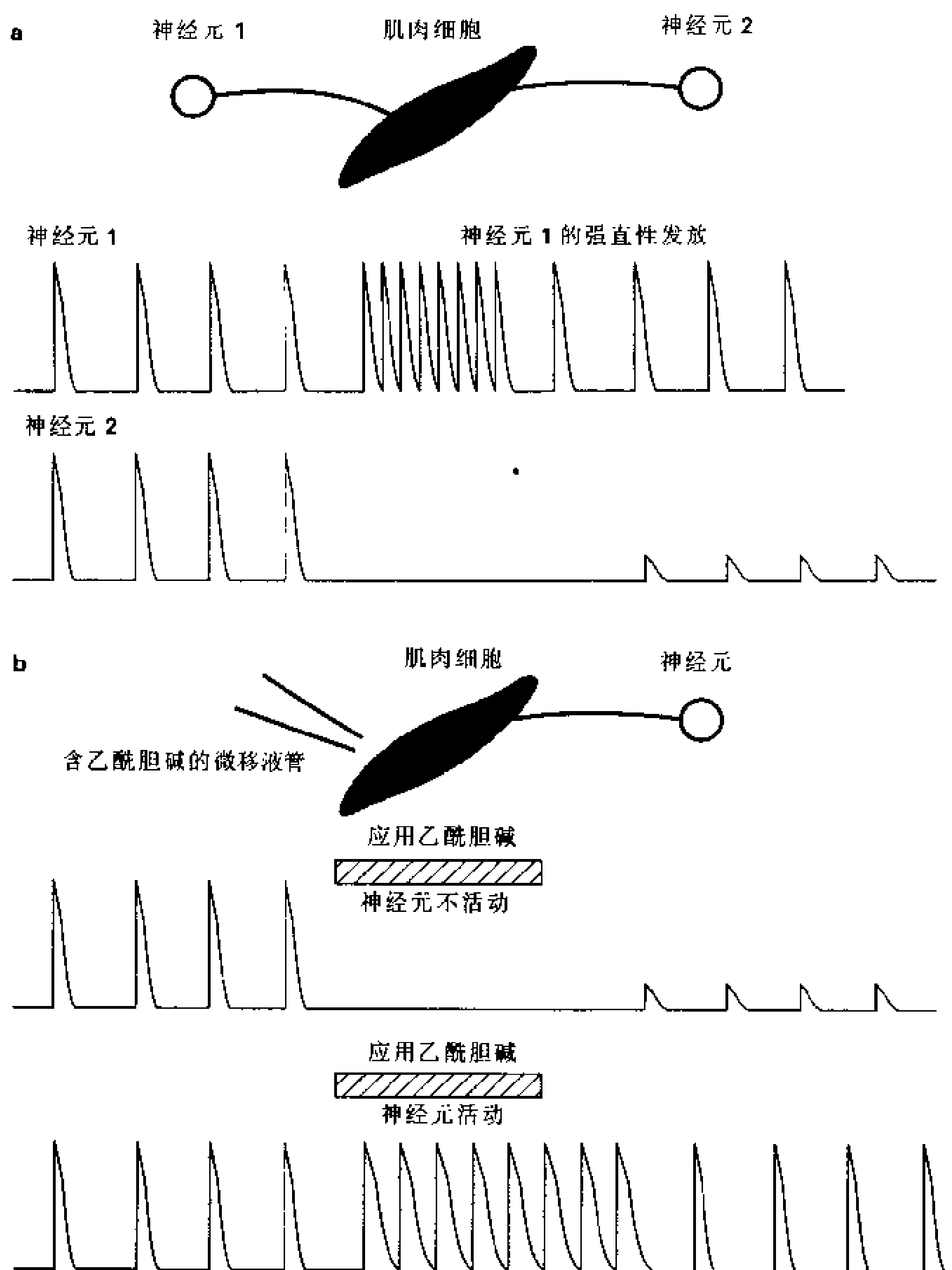


图 16-10 Mu-Ming Poo 及其同事的实验显示，神经肌肉接头处突触传入的异突触抑制。a：一个运动神经元的强直性刺激导致另一神经元传入的继发性抑制(Lo 及 Poo, 1991)。b：应用乙酰胆碱于肌肉细胞，引起处于非活动状态的运动神经元传入的抑制(上部分)，但处于活动状态的神经元的突触不被乙酰胆碱的作用所抑制 (Dan and Poo, 1992)。

非活动突触的快速抑制过程，很可能是完全清除这些突触连接的第一步。乙酰胆碱脉冲或强直性刺激对肌肉的作用之一是使细胞内钙水平升高。我们已经知道，细胞内钙水平升高是抑制非活动的突触所必需，而且据认为可以触发从肌肉细胞释放的逆向信使的合成。根据这一思路，这种逆向信使释放时，处于活动期的突触前终末不会被清除。

在第十八章我们将会看到，活动的突触在发育期中的这种稳定性与发生在成年大脑

的突触可塑性变化的情况相似。在神经系统的别的许多部分，也观察到发育过程中的突触重建，包括大鼠的小脑、耳蜗核、颈上节、睫状节和颌下腺。在上述每一器官内，支配一个特定的突触后细胞的轴突数量在发育期进行性减少，而在同一时期，有时突触前和突触后细胞的总数无变化或只有轻微变化。就像在视网膜顶盖系统和神经肌肉系统一样，基于活动性突触选择性稳定的突触的重排需要假说去解释。例如，在某些情况下，突触后细胞激活后可释放一种营养因子，这种因子只作用于最新近活动的突触前终末并使之稳定和生长。然而没有任何理由期望神经系统的所有部分的突触重排的机理是同样的。例如，视网膜顶盖系统需要 NMDA 受体的激活，而神经肌肉接头并不存在 NMDA 受体。

虽然由于竞争的结果，支配单一突触后细胞的突触前神经元在发育期中可能会减少，但是并不是所有这些竞争导致一个"单赢"的突触前细胞。竞争可能局限于突触后细胞膜的一个相对小的区域。例如，在有复杂的树突分枝的细胞表面，竞争可能导致一个突触前细胞在一个树突分枝表面建立突触终末，而来自别的细胞的突触则被清除掉；在另一个树突分枝或树突树的其他区域，另一突触前细胞的终末可能优先建立突触，导致成熟的突触后细胞的不同区域由不同轴突支配。一般来说，似乎树突分枝不多的细胞，接受的所有传入冲动在细胞体的突触后膜互相竞争，形成单一神经支配；而树突分枝很复杂的细胞则保持多神经支配。

成年神经系统的突触可塑性

成年神经出芽　　我们已经解释了在神经系统形成期间，神经突起分枝的延伸及突触的形成和崩解。很明显成年神经系统保留了这样的突触可塑性所需的几乎所有构造。这可以从成年神经肌肉接头得到证明，成年神经肌肉接头突触连接的稳定性取决于肌肉内的持续的电活动。应用河豚毒素于运动神经元轴突，或者局部注射一种药物如 α-银环蛇毒素，能阻断突触传递，其中 α-银环蛇毒素可阻断肌肉细胞对释放于突触处的乙酰胆碱的反应。当突触传递被阻断时，突触终末出现新的分枝，这些分枝在肌肉纤维表面扩展，形成新的突触接触。

成年轴突有能力出芽形成新的突起及形成新的突触的进一步证据来自神经肌肉接头处的运动神经损伤后恢复的研究。通过切断部分传入轴突造成肌肉的部分失神经支配，未受损的运动神经元将形成新的分枝分布于失神经支配的区域，并建立新的突触(图 16-11)。这些新**芽**可以从运动神经元的终末(**终末出芽**, terminal sprout)或郎飞氏结发出(**结出芽**, nodal sprout)。在失神经支配的肌肉表面建立突触的芽保持稳定，可能是通过肌肉细胞分泌的一些营养因子的作用(见后面部分)。然而未能到达靶区的芽最终回缩。不完全切断轴突或不完全阻断它们的电活动也可引起出芽。例如，应用抑制运动神经元轴突轴浆运输的药物，如秋水仙素等破坏微管的药物，可在相邻轴突的终末诱发出芽。

成熟神经元除了能在终末附近出芽，还能再生完整的轴突。在神经肌肉接头处，运动神经元轴突被切断后，轴突的远侧部分变性，连接胞体的轴突剩余部分在远端形成新的生长锥并长回到失神经支配的肌肉。在再生中的轴突上可发现轴突发育的生化变化特征，例如 GAP-43 蛋白(第 15 章)在轴突再生时浓度急剧升高。当生长锥到达肌肉时，新的突触形成。如果此时突触接触原来的部位已被相邻未受损的轴突芽枝占据，这些芽枝可能

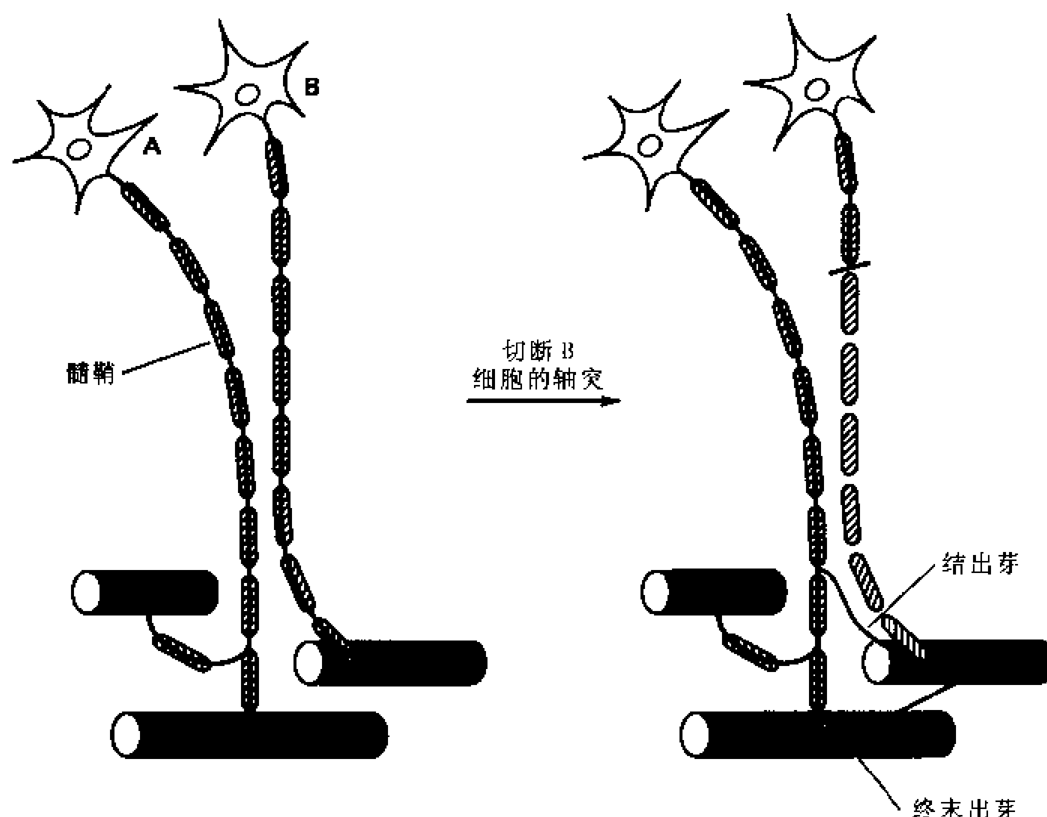


图 16-11 成年神经肌肉接头的轴突出芽(改自 Brown，1984)。

由于原有神经再支配而回缩。因此，成年神经系统突触分枝的重建在许多方面与发育期的情况相似。

成年后突触重塑是否依然存在　　虽然本章介绍的实验指出，保持成熟神经元的稳定依赖于持续的电活动，而且这些神经元完全能够回缩它们的突起或建立新的突触，但是在非实验条件下这些突起出现的范围并不容易评估。不管怎样，一系列实验提供的形态学证据已证明，这些突触重塑正常地出现于神经肌肉接头和神经系统内（如图 15-1 所示）。有些研究观察了动物的经验变化对突触结构的变化的影响。不仅如此，老年动物体内的细胞体大小、轴突分枝模式以及突触接触和树突棘的数量均有明显改变。成年动物体内神经元结构的这一大规模重塑的功能意义仍有待探索。

突触形成的部位由基底层的蛋白质所标记　　**再生中**（regenerating）的轴突形成神经肌肉突触的过程与胚胎运动神经元最初的轴突形成突触的过程可能有某些区别，尤其是胚胎轴突最初的突触可能位于肌肉表面的随机位置，而再生的轴突特异性地在原有突触的位置形成。似乎原突触接触的部位由诱导生长锥形成突触前结构的特异性分子所标记。有趣的是，这些分子并不分布于肌肉膜的表面，反而位于**基底层**（basal lamina），即肌肉细胞分泌的围绕肌肉的细胞外蛋白层（图 16-12）。

同时切断运动神经元轴突和肌肉纤维引起肌肉变性，可以证明标记前突触位置的分

子位于基底层(图 16-12),在此条件下,只有基底层仍存在。形态学和乙酰胆碱酯酶的存在均能确定原突触接触的位置。当再生中的运动神经元轴突到达基底层时,特异性地在原突触位置形成明显的正常突触终末。因此,可能最初的突触形成后的一定时期,肌肉细胞分泌一种标记蛋白到突触间隙的基底层。抗不同的基底层蛋白的抗体已经制成,并已发现某些抗体选择性地定位于基底层的突触部分。其中之一称为 **S-层黏蛋白(突触的层黏蛋白**, synaptic laminin, S-laminin)(图 16-12),是层黏蛋白的 B1 链的类似物,在第十五章我们已经指出,层黏蛋白是细胞外基质的组成部分。

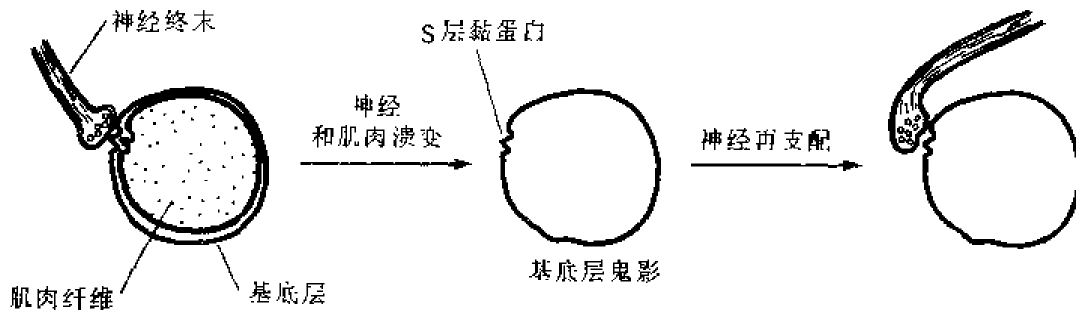


图 16-12 基底层标记神经肌肉接头突触形成的部位。Marshall 等(1977)完成的实验证实,再生中的运动神经元轴突在原突触所在部位的基底层上特异性地形成突触。

虽然层黏蛋白三聚体(见图 15-6)存在于整个基底层,但是在突触处,S-层黏蛋白取代通常的 B1 链。S-层黏蛋白与正常 B1 链的很重要的不同是,S-层黏蛋白**选择性地**(selectively)与运动神经元胞膜结合。有趣的是,S-层黏蛋白内一个只有三个氨基酸的序列(亮氨酸-精氨酸-谷氨酸)似乎是这一选择性黏附所需的全部。只存在于突触的基底层内的其他蛋白质(如**聚集素** agrin,将在以后讨论)也含有一个或多个重复的这种简短序列。运动神经元膜与 S-层黏蛋白的结合处含有一个对它们的轴突生长非常重要的序列。运动神经元膜在正常型式的层黏蛋白上生长良好,但它们的生长实际上受 S-层黏蛋白抑制。因此,突触的基底层内的 S-层黏蛋白和其他含有亮氨酸-精氨酸-谷氨酸序列的分子,可能在突触形成前起停止轴突生长的信号作用。

切断轴突或阻断轴浆运输后突触前终末消失 我们已经知道,切断轴突,或者阻断轴突运输,会引起该轴突形成的突触连接及支配同一靶区的其他轴突形成的突触发生调整。该被切断轴突的细胞的突触前接触也发生同样的变化。例如,如果交感节神经元的轴突被切断或受到秋水仙素的作用,它们所接受的来自其他神经元的突触就会回缩(图 16-13)。正如预期的那样,伴随着节前突触的回缩,刺激节前神经所激发的节神经元的突触电位也相应地明显降低。当轴浆运输恢复或交感节细胞轴突再生和形成新的接触时,突触前轴突的分枝也延长并重建完整的突触。

在许多不同的神经通路都能观察到轴突阻断后这种突触前终末的消失,因此,似乎突触前终末的正常维持依赖于某些活性因子,这些活性因子只有未受损的突触后细胞才能提供。多数情况下,这种假想中的因子及其作用方式并不清楚。然而对于交感神经元,NGF 可能在这种现象中扮演了重要角色。例如,应用 NGF 于切断轴突后的交感节可预

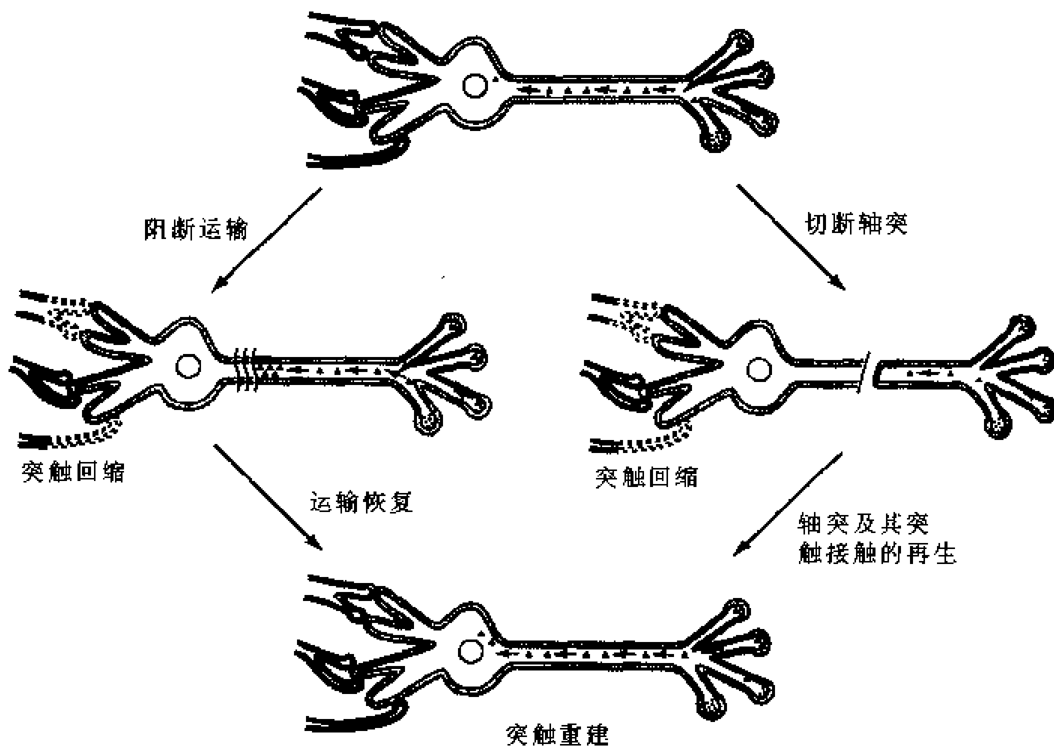


图 16-13 阻断轴浆运输或切断轴突后突触前终末消失。突触前传入的维持可能依赖从终末向胞体运输的突触后因子。

防其突触前终末的丧失，如图 16-13 所示。而且，用抗 NGF 抗血清处理动物，可结合内源性 NGF，从而阻止细胞摄入 NGF，甚至在交感节神经元轴突保持完整的情况下也能引起交感节神经元表面的突触的丧失。

突触形成后细胞特性的变化

突触接触的形成通常伴随着一系列突触后细胞特性的改变。突触后膜内的受体重组，突触后细胞合成的蛋白质种类可能发生巨大的变化。某些这样的效应的出现，是由于新长入的轴突诱发突触后细胞内新的电活动型式。其他的变化是由于不直接依赖新的传入刺激的一些因子作用的结果。

神经肌肉接头的受体重组　　脊椎动物的神经肌肉接头为研究这些效应再次提供了经典的模型。运动神经元的生长锥到达肌肉后，最早被观察到的现象之一是在新形成的突触前终末下乙酰胆碱受体的**聚集**(clustering)。即使运动神经元纤维到达之前，未成熟肌肉细胞的浆膜也含有高密度的乙酰胆碱受体。虽然可发现一些点状聚集的受体，但是它们相对均匀地分布于细胞的表面。然而当神经到达时，诱发受体丛簇状聚集在新形成的突触前终末下(图 16-14)。这些受体的聚集似乎是由于新合成的受体优先嵌入终末下的胞膜，以及原有受体可能被诱导聚集于这些部位(图 16-15a)。

终末下的受体称为**接头受体**(junctional receptor)，而位于胞膜的非神经支配部位的受

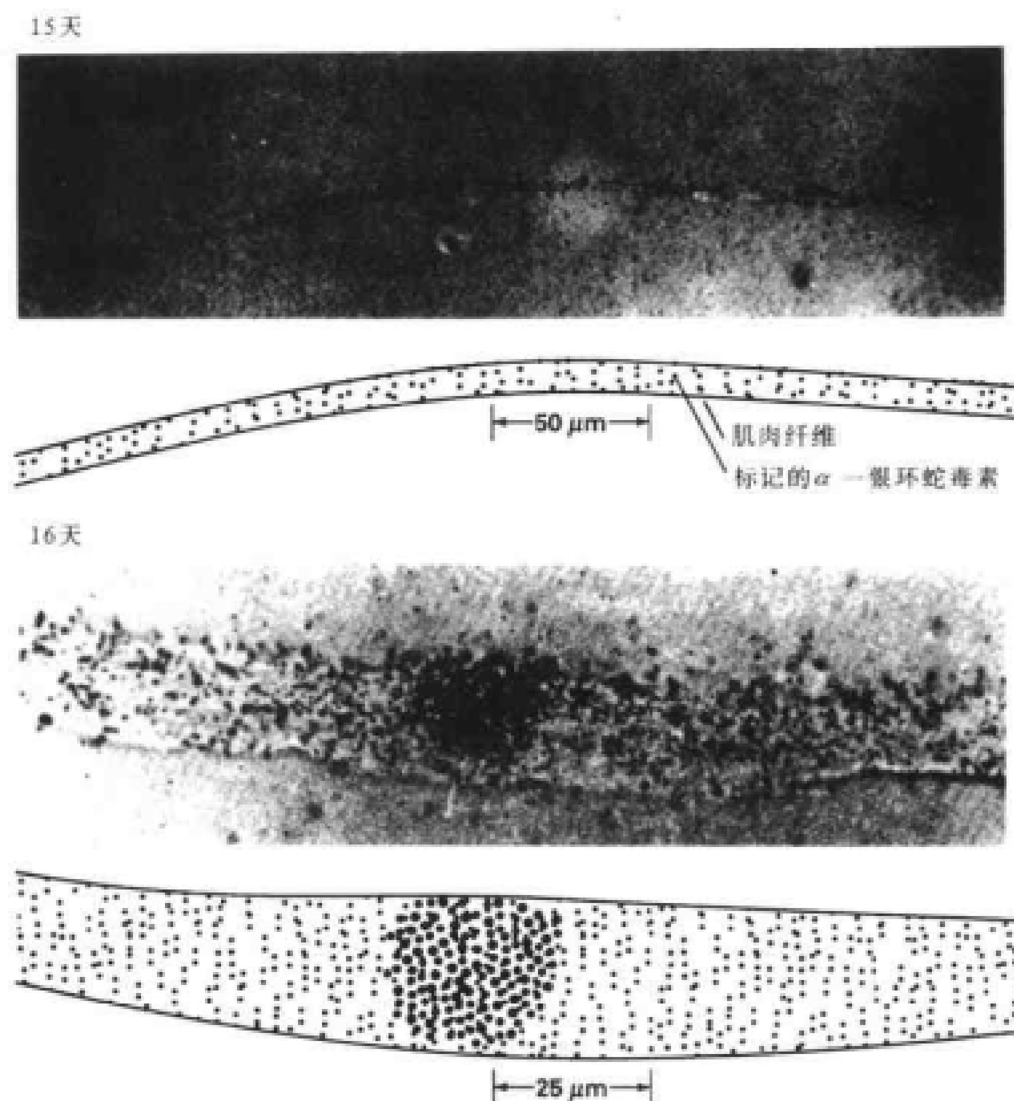


图 16-14 受体聚集。Bevan 和 Steinbach(1977)所做的在胚龄 15 到 16 天的大鼠胚胎神经肌肉接头的放射自显影。接头和 α-银环蛇毒素一起培养，α-银环蛇毒素是乙酰胆碱受体的配基，在 16 天胚龄动物，受体聚集很明显。

体称为**接头外受体**(extrajunctional receptor)。接头外受体比突触间隙下的受体的合成和降解速度快，所有的接头外受体最后都会消失。受体在接头处聚集似乎不取决于突触前神经的电活动，或者肌肉本身的电活动，而是取决于长入的神经终末分泌的因子。

聚集素:受体聚集的信号　突触后受体重组的第一步是原有受体向突触形成的部位移动。一系列不同的因子，包括 bFGF(见第 14 章)能诱导受体聚集。但是，最关键的信号可能是基底层的另一种蛋白质：**聚集素**(agrin)。聚集素由生长中的运动神经元合成、被运输到终末，再分泌到基底层。肌肉细胞也能合成另一种聚集素，但是只有神经元释放的聚集素才引起受体聚集。毫不奇怪，聚集素也有我们已提到的调节神经元生长和分化的其他分子的许多特性(图 16-15b)。聚集素分子含有一些 EGF 样区域，即类似于层黏蛋白的区域，以及一些重复的序列，类似于某些蛋白酶抑制剂的活性结构域。

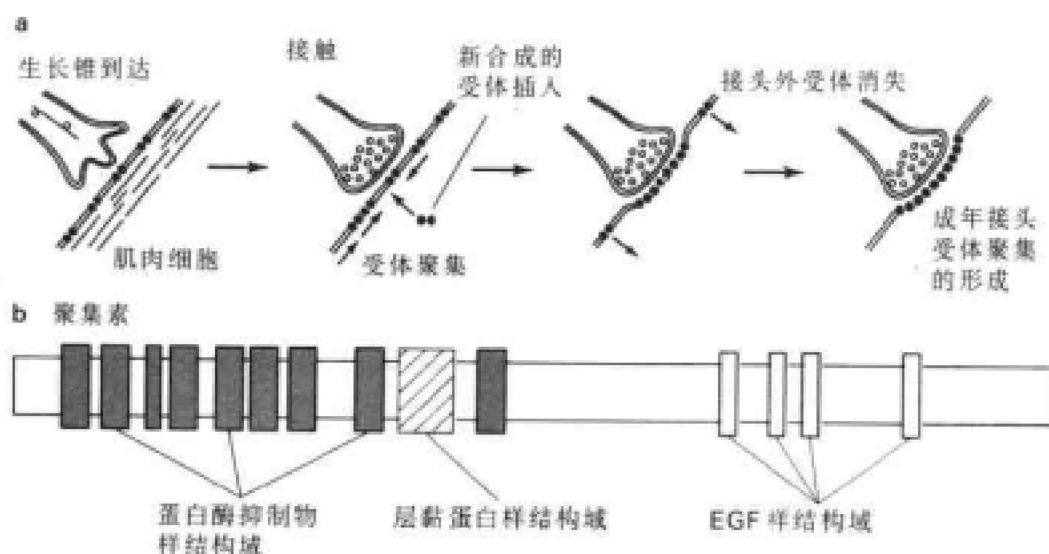


图 16-15 乙酰胆碱受体在神经肌肉接头处聚集。a:图示受体聚集的发生和接受神经支配后新合成的受体的插入。b:聚集素的结构。

神经到达前,乙酰胆碱受体在膜平面内是相对活动的以及可自由扩散,接头外受体向突触膜的补充取决于聚集素与突触后膜内受体的结合。正如我们在第 12 章谈到的,聚集素受体的激活引起乙酰胆碱受体在酪氨酸残端的磷酸化,然后可能使受体与突触间隙下的胞膜及胞膜下的细胞骨架成分发生紧密和选择性的联系,从而使受体有效地固定于该处。这些联系的一个重要链接是 **rapsyn**,一种 43kDa 蛋白质,可结合乙酰胆碱受体并把它偶联到突触的其他蛋白质上,其中之一是一组蛋白质,称为**肌营养不良素-糖蛋白复合体**(dystrophin-glycoprotein complex)(图 16-16)。

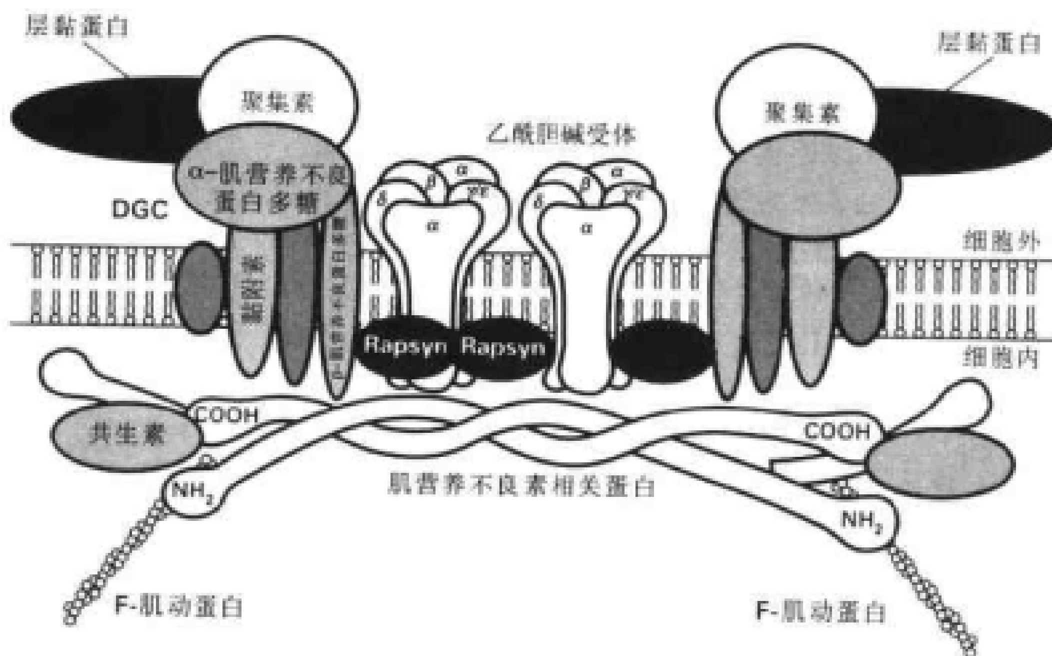


图 16-16 乙酰胆碱受体在神经肌肉接头处的固定。Rapsyn 蛋白把受体连接到肌营养不良蛋白-糖蛋白复合体上(改自 Apel et al., 1995)。

分子质量很大的营养不良素-糖蛋白复合体包含 4 种跨膜蛋白，包括**黏附素**(adhalin)、**β-肌营养不良蛋白多糖**(β-dystroglycan)、一种细胞外蛋白质 **α-肌营养不良蛋白多糖**(α-dystroglycan)及几种细胞内蛋白质如**共生素**(syntrophin)等。然后这一复合体能够结合基底层和肌肉细胞骨架上的其他蛋白质。在细胞外侧，结合到复合体上的两种蛋白质是层黏蛋白和聚集素(虽然引起受体磷酸化的聚集素似乎与这一复合体有很大不同)。在细胞内侧，营养不良素-糖蛋白复合体与两种细胞骨架蛋白结合：位于接头外区域的**肌营养不良素**(dystrophin)和位于突触膜下的相关的蛋白质——**肌营养不良素相关蛋白**(utrophin)。因此这一把基底层连接到细胞骨架的蛋白网架，可能为与之相连的蛋白质如乙酰胆碱受体提供了一个牢靠的错。

神经调节蛋白：神经元诱导的受体合成变化的信号　原有的乙酰胆碱受体早期聚集以后，新受体合成开始增加。与多数细胞类型相反，肌肉细胞含有多个细胞核，一些核正好位于突触形成部位下，这些核的定位是有其功能意义的，正是这些突触下的核合成乙酰胆碱受体 mRNA 及其他的突触后膜蛋白的 mRNA。

激活突触处的新的乙酰胆碱受体合成的信号与导致原有的受体聚集的信号很不相同，它是长入基底层突触部位的运动神经元终末分泌的另一种分子。这种合成激活分子即**神经调节蛋白**(neuregulin)。现在来说毫不奇怪这种分子也含有 EGF 样以及免疫球蛋白样结构域。通过对来源于神经调节蛋白基因的 mRNA 的不同拼接，产生一系列不同的生长因子样分子。不同细胞产生的因子不同，而且性质也不同，有的是膜蛋白，有的则被分泌到细胞外基质。一些神经调节蛋白能诱导施万细胞分裂，因此一开始就被称为**胶质细胞生长因子**(glial growth factor)。诱导乙酰胆碱受体合成的神经调节蛋白开始时被称为**乙酰胆碱受体诱导活性**(acetylcholine receptor inducing activity, **ARIA**)。就像我们在第 14 章谈到过的其他的神经元分化因子一样，突触接头处的神经调节蛋白与和 EGF 受体密切相关的受体酪氨酸激酶相互作用，这一受体名为 erbB2。erbB2 有自身磷酸化的作用，并可能与相近的 erbB3 受体结合而使其磷酸化。然后这一变化可能触发一系列信号传递过程，导致突触下细胞核的乙酰胆碱受体基因转录增加。

在神经-肌肉接触成熟的过程中，不仅受体的物理定位和数量发生变化，而且乙酰胆碱受体本身的性质也发生变化。膜片钳记录技术已显示，胚胎的受体通道与成年的是不同的，正如我们在第 10 章所看到的，胚胎肌肉受体由 α、β、γ 和 δ 亚单位组成。随着神经肌肉接头的成熟，γ 亚单位的合成停止，新的 ε 亚单位合成开始。受体通道性质的改变可能是由于从 γ 亚单位向 ε 亚单位的转化。

电活动对神经元或肌肉细胞特性的影响　我们已经清楚这样一个事实，即神经元内的电活动对生长因子会产生不同的反应，它自己也可能发生长期的变化影响神经元的特性。例如在第 14 章我们看到，电活动可阻断胆碱分化因子对自主神经系统神经元的作用。在这一章，我们已经知道运动神经元的电活动可导致同一肌肉细胞与其他神经元的突触消失。读者不难发现，神经肌肉接头对在成熟突触接头的塑型和维持方面的电活动的作用提供了丰富的信息。

我们已经清楚新的乙酰胆碱受体的聚集和合成不依赖于神经或肌肉的电活动，而是

依赖于基底层的特殊因子。然而，与这些发育过程同一时期出现的剩余接头外受体的清除，却直接依赖突触前神经元提供的刺激。因此，阻止运动神经元动作电位的出现可防止这些受体被清除。即使在成年，阻断运动神经元也可增加接头外乙酰胆碱受体的数量，导致肌肉对乙酰胆碱的超敏感性。对肌肉本身的直接电刺激能极大地防止这种变化，说明肌肉的持续活动是维持其正常特性所必需的。

分布和含量受电活动影响的另外两种蛋白质是乙酰胆碱酯酶（即中止乙酰胆碱作用的酶）和细胞黏合分子 N-CAM。像乙酰胆碱受体一样，两种分子开始时均匀分布于肌肉表面，但是接受神经终末的支配以后，两者都从接头外区域消失而高密度地聚集到突触后接头处。这些蛋白质在突触处的正常聚集似乎需要肌肉持续发出的电活动，而麻痹肌肉的处理可减少这种聚集。反过来，直接电刺激肌肉促进这些蛋白质在突触的聚集。

最后，当清除突触前轴突的活动时，不管是通过去神经支配或药物阻断对肌肉细胞的传入冲动，会导致肌肉的电压依赖性钠通道特性的改变，这种改变使其对河豚毒素的阻断不敏感，这种河豚毒素非敏感性钠通道通常只在发育的早期才存在。

快肌肉纤维和慢肌肉纤维　John Eccles 爵士及其同事发现了神经元活动模式影响突触后靶组织的方式的突出例子。哺乳动物有两种骨骼肌：**快颤肌**（fast twitch muscle）**和慢颤肌**（slow twitch muscle）。构成快颤肌和慢颤肌的纤维有多方面的不同特点。例如快和慢纤维含有不同的肌肉收缩蛋白：肌球蛋白。而且快肌肉纤维颜色苍白，用于产生快速自主相运动。相反，慢肌肉纤维富含肌红蛋白，因此颜色较红，用于维持固定姿势。支配这两种不同的肌肉纤维的神经元也有非常不同的电生理特性。支配快肌肉的运动神经元典型地发出快速成串的动作电位的间歇性爆发，只有细弱的后超极化跟随这些动作电位，使这些细胞能发出频率高达 30～60 峰/秒的脉冲。相反，支配慢肌肉纤维的神经元似乎有稍微不同的离子通道控制脉冲发放的模式。这些细胞有较大的动作电位后超极化，因而发放较慢的频率仅为 10～20 峰/秒的脉冲（图 16-17a）。

Eccles 的研究小组发现，如果强行迫使含有快运动神经元轴突的神经支配慢肌，慢肌的特性将会转变成快肌特性，相反，慢运动神经元支配快肌会使快肌的特性转变成慢肌特性（图 16-17b）。后续的工作已证实，是电活动模式的改变使得肌肉的生化和收缩特性发生转变。例如如图 16-17c 所示，当支配快肌的神经被强制连续发出 10 峰/秒的低频脉冲几个星期后，快肌就会表现出慢肌的特性。但是传入电活动模式可能不是肌肉反应特性的惟一决定因素，比如在发育的最早期，在完全缺乏神经传入的情况下，一些肌管（成熟肌纤维的前身）分化成快或慢纤维。而且，模式化的电活动对慢纤维向快纤维转化的作用不如对快纤维向慢纤维转化的作用明显。

除了神经肌肉接头，对神经系统的其他部分的神经元受刺激的效应也进行了实验研究。例如对交感节神经元的研究，交感节神经元的电活动是维持酪氨酸羟化酶水平的必要前提，该酶是合成去甲肾上腺素的限速酶（见第 9 章）。阻断电活动的药物可引起编码该酶的 mRNA 水平降低，而电活动的刺激可引起该 mRNA 的水平持续升高。刺激交感节也影响神经肽 P 物质的水平，与对酪氨酸羟化酶的作用正好相反。例如，使交感节失神经支配从而阻断电活动，P 物质含量升高；刺激交感节可抑制它的升高。

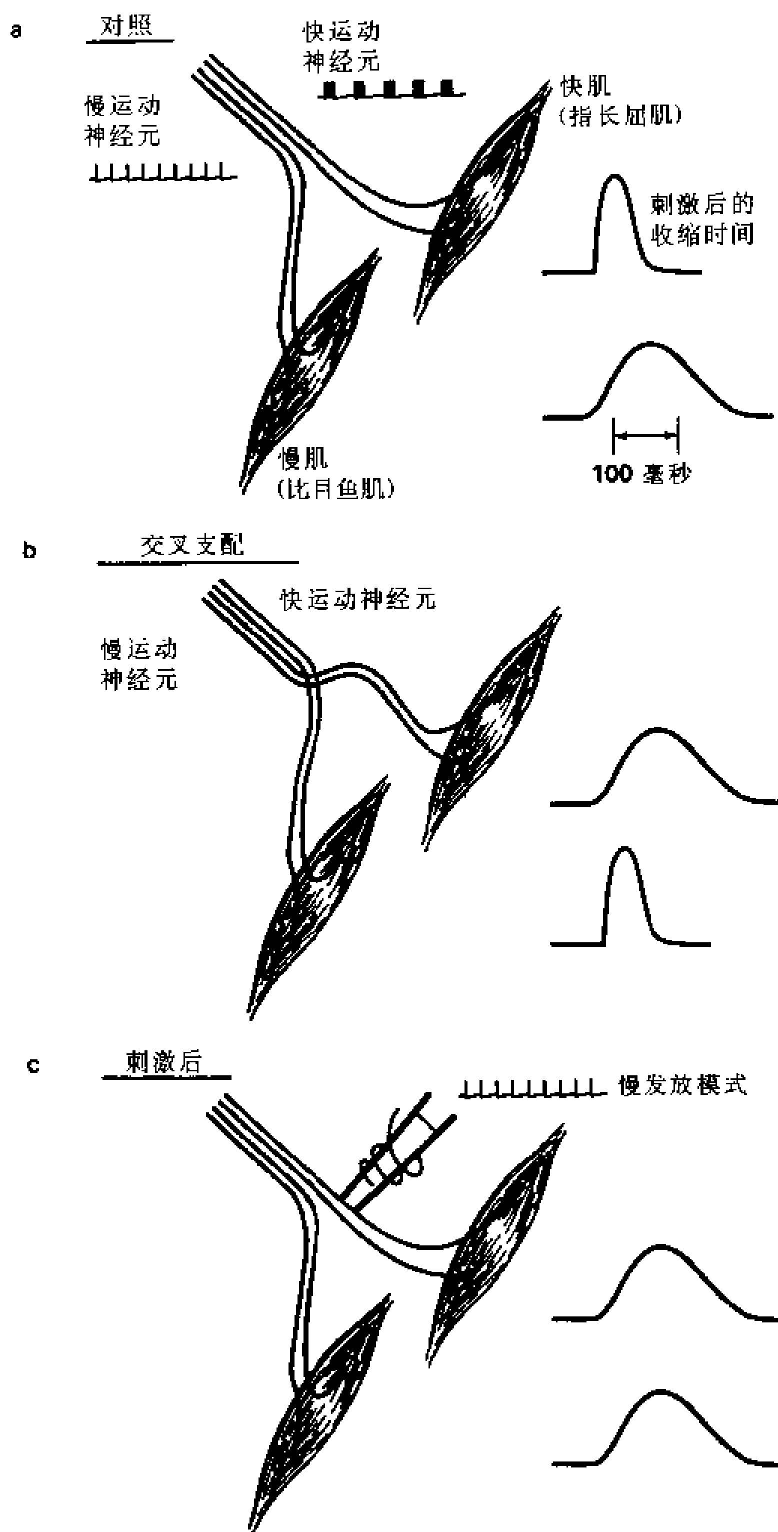


图 16-17 肌肉特性取决于电传入模式。Buller 等（1960）发现，接受慢运动神经元传入支配的快肌（a，b）表现出慢肌的特性。强迫接受的慢冲动模式对快运动神经元（c）也具有相同的作用（Salmons and Streter, 1976）。

神经元的活动激活转录因子

神经元电活动的变化如何产生前面章节谈到的意义深远的可塑性效果呢？很可能存在转导外在信号的生物化学通路，例如通过钙通道的钙内流或神经递质受体的激活，转化为细胞内信使，从而改变神经元或肌肉细胞核内的特异性基因的表达。分子基因学的经验已经告诉我们，当外在因子开启和关闭基因时，它们的作用与核内一系列特异的蛋白质的活动偶联在一起。**转录因子**(transcription factor)起细胞内开关作用，控制新的蛋白质合成，进而改变细胞的特性。有证据表明，转录因子介导许多信号转导分子的作用，在前面两章我们已经介绍过这些分子。然而有些转录因子引起神经生物学家的特别兴趣，因为已证明神经元活动可激活这些因子。其中两个是 fos 和 jun 蛋白，在第 18 章我们将会遇到另一个重要的转录因子：**cAMP 反应单元结合蛋白**(cyclic AMP response element binding protein, CREB)。

fos 和 jun 转录因子属于一密切相关蛋白质大家族，许多非神经元细胞受到刺激细胞分裂的生长因子的作用后，会引起某些这类蛋白质的快速合成(图 16-18a)，并移动到细胞核。由于这一原因，这些转录因子的基因有时称为**即早基因**(immediate-early gene)，顾名思义：它们是细胞受刺激后激活的最早的基因。fos 和 jun 蛋白均含有一个螺旋区，亮氨酸在该区每隔 6 个氨基酸重复出现，这一相当普遍存在的结构模式名为**亮氨酸拉链**(leucine zipper)。它往往参与蛋白－蛋白相互作用，它的存在使 fos 和 jun 形成二聚体。事实上 jun 蛋白也与其他相关转录因子形成二聚体。蛋白二聚体随后结合到 DNA 的特定序列，因面调节邻近基因转录成 mRNA 的能力。因此，据认为 fos-jun 复合物及其相关物质能作为信使，链接生长因子受体与特异性蛋白质的合成。已经证明一系列不同的因子包括 NGF、EGF、胰岛素和乙酰胆碱诱导 PC12 细胞的 *fos* 表达高达 100 倍。

fos 基因的一个特别令人感兴趣的方面是，电活动单独能诱导它的表达，很明显是通过细胞的钙内流。甚至在某些成年神经元，应用直接电刺激、惊厥剂或兴奋性氨基酸和伤害性感觉刺激能实验性地激发 fos 蛋白的合成(图 16-18b)。事实上已应用 fos 合成的细胞定位作为判断神经元通路是否连接到中枢神经系统特定的神经或核团的解剖学工具。因此提示这一转录因子通路使神经元的短期刺激能产生基因表达的长期变化。因为存在 fos 和 jun 等调节蛋白家族，每一家族成员可能由对神经元的不同刺激激发，随后可能激发细胞核的独特的反应程序。可能正是这一通路导致了我们将要在第 18 章讨论的长期行为可塑性。

神经系统内原癌基因的可能作用

fos 和 *jun* 基因刚被发现时被确定为**原癌基因**(proto-oncogene)，**致癌基因**(oncogene)是引起一群细胞无限制生长的异常基因，有些在感染细胞并引起细胞异常生长的病毒身上发现。最初人们也许会认为，虽然癌症研究人员对致癌基因应该会有浓厚的兴趣，但是对神经元的研究可能没有直接的关系。但是似乎多数致癌基因编码的蛋白质在正常细胞内有其类似物，包括神经元，某些这类基因的正常产物可能对神经元生长和神经元对外界

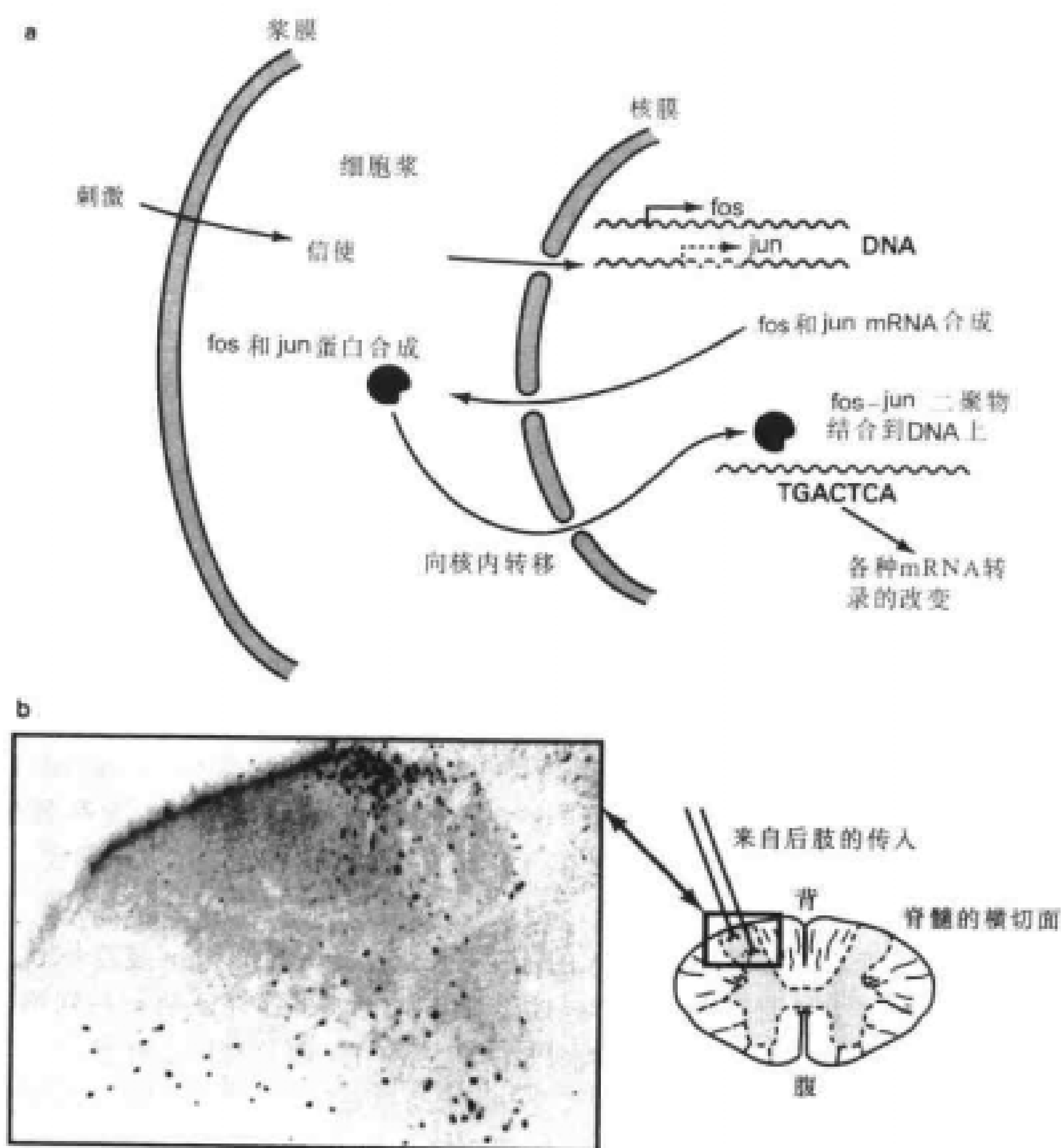


图 16-18 原癌基因 *fos* 和 *jun*。a：细胞受刺激后 fos 蛋白和 jun 蛋白的形成和移向核内(Morgan 和 Curran, 1989)。b：Steven Hunt 及其同事在脊髓切片上的 c-fos 免疫组化染色。切片来自后肢接受过有害刺激的动物。黑点显示那些 c fos 已被诱导表达的神经元细胞核的位置 (Hunt et al., 1987)。

刺激的反应有特殊的作用。我们已经知道与生长因子密切相关的蛋白质在决定成熟神经元的特性方面扮演了重要的角色(见第 14 章)。

原癌基因这一名称用于描述正常细胞内致癌基因的类似物，原癌基因编码的多数蛋白质似乎是信息传递通路的组成部分。其中之一是 erbB2，即在本章较前部分我们谈到的神经调节蛋白的受体。一个和 erbB2 密切相关的原癌基因是 *erbB*，现在已确认 erbB 编码 EGF 受体。在第 14 章，我们谈到的信使分子 Ras 也是最早被确认的原癌基因的蛋白质产物。

许多原癌基因的令人感兴趣的特点之一是能在神经元高度表达，而神经元是不能再分裂的细胞。例子之一是 *src* 原癌基因。像 EGF 受体和相关受体一样，*src* 原癌基因编码的蛋白质是一种酪氨酸激酶。但它又与上述受体有所不同，它不是膜整合蛋白，因此它

本身可能不是受体。由于它是磷蛋白，分子质量是 60 000，有时称之为 $pp60^{c\text{-}src}$。当细胞开始分化成神经元时，细胞内 src 酪氨酸激酶开始形成。不仅如此，这种激酶在完全成熟的神经元内维持高水平。虽然 src 酪氨酸激酶也出现于其他细胞内，但是神经元内的水平是其他细胞的 6～20 倍。而且，神经元内的 src 激酶不同于其他细胞内的激酶，神经元内的 src 激酶多含 6 个氨基酸。虽然这一发现提示神经元特异性 src 蛋白激酶很可能对发育中的和成熟的神经元均有重要作用，但是仍有待证实。

表 16-1　化学性突触形成过程的步骤

1．生长锥接触恰当的靶组织
2．神经递质释放增加
3．突触前终末对靶组织的黏附力增加
4．由于异突触抑制，与之竞争的其他突触消失
5．突触后膜处受体聚集
6．新的受体在突触后膜处合成和插入
7．接头外受体清除

小结

当发育中的轴突到达适当的突触后靶组织时，轴突停止延长，出现一系列特征性形态学和生物化学改变，最终导致突触形成。表 16-1 概括了这些变化的部分内容。神经元用于选择正确的突触后伙伴的线索是化学标志，化学标志帮助适当的突触前和突触后细胞配对。不是所有发育期形成的突触保持到成年，有些突触有选择地稳定下来，而别的突触则消失了。突触前神经元的电活动模式对突触稳定的筛选非常重要，而且调节突触后细胞的性质。

成年动物的突触也可能不断地崩解和重建，发育期控制突触形成和稳定的一些同样的机理对这些成年突触可塑性起作用。实验性地切断突触前轴突使突触终末变性可观察到这些改变。相邻未受损的轴突占据空出的突触部位，直到再生的轴突长回来重新占据这些部位。这种突触连接再生可能有很强的特异性以达到相应的突触功能恢复。

目前正对发育期和成年期突触形成和突触可塑性的分子生物学机理进行大规模研究，对于生长因子、原癌基因、酪氨酸蛋白激酶、神经递质和电活动模式的零散发现，神经生物学家仍未能把它们综合到一起。当图像拼接完整时，就可能清楚了解非分化细胞变成成熟神经元的途径，电活动在决定成熟细胞的特性的作用以及各种分子对成年神经元的可塑性特性的作用。

17

神经网络与行为

当神经元工作时，它们不是孤立存在的。神经系统的所有功能，从心跳等自主神经活动的调节，到复杂的动物行为如约会和交配等的控制，都反映了相互作用的神经元构成的**网络**(network)的协同效应。神经生物学家面临的一个主要挑战，就是认识神经网络从事的相互作用和信息处理的本质。在这一章，我们将介绍一系列已知其生物功能的简单的神经网络。选择这些有代表性的例子，是为了阐明网络中的不同神经元的特殊细胞特性，怎样构成了神经网络作为一个整体的功能的基础。

神经网络模型

很明显，对离体的单一神经元的研究并不能预言由许多神经元组成的神经网络可能产生的作用模式。网络的这些特性可归之于它的**应激特性**(emergent property)，由细胞间的交互作用产生。多年来，人们进行了很多尝试，通过分析交互作用的单元的简单数学或计算机模型，试图了解应激特性。图 17-1a 表示一个典型的网络模型，由一组传入单元、一些内部单元和一组传出单元组成。举例来说，神经元 i 和神经元 j 组成的"突触"联系的作用强度，用一个参数 a_{ij} 表示，称为**突触权重**(synaptic weight)。

为使网络行为的定量评估切实可行，常常有必要对网络中的单一成分的特性作高度概括性假说。例如，最早的模型假设神经元只有两种状态：当它发出冲动时，处于**打开**状态；当它静止时，处于**关闭**状态，很像数字计算机的组成单元。目前许多其他模型假设如图 17-1b 所示的 S 形传入-传出函数。在此情况下，一旦从网络的其他细胞来的兴奋性突触传入与抑制性突触传入的平衡超过冲动发放阈值，神经元就会发出传出冲动。发出冲动的频率取决于一定时间内的传入总量。

从这些研究得到的主要信息，是非常简单的单元组成的网络，能进行复杂的活动和相当高级的运算。例如，有些网络能辨别代表字母表的字母的传入方式，当"A"字母形态的刺激作用于二维排列的传入神经元时，一组传出神经元将发出冲动；当"B"字母形态的刺激作用时，另外一组神经元发出冲动。其他网络产生的冲动发放模式非常类似于诸如癫痫发作等的病理状态(图 17-1c)。也有其他一些网络模型抓住数学问题。在所有情况下，神经网络的反应一定程度上被编码在一组传出单元的活动模式内。当个别突触联系的突触权重按照预定的规律发生改变时，网络模型的传出可能表现为学习的特征。

网络模型的研究很可能在未来几年对一些工程领域例如计算机的设计等产生巨大的影响。但是，在探索真实的神经元和它们之间的相互作用方面的应用却进展缓慢。随着

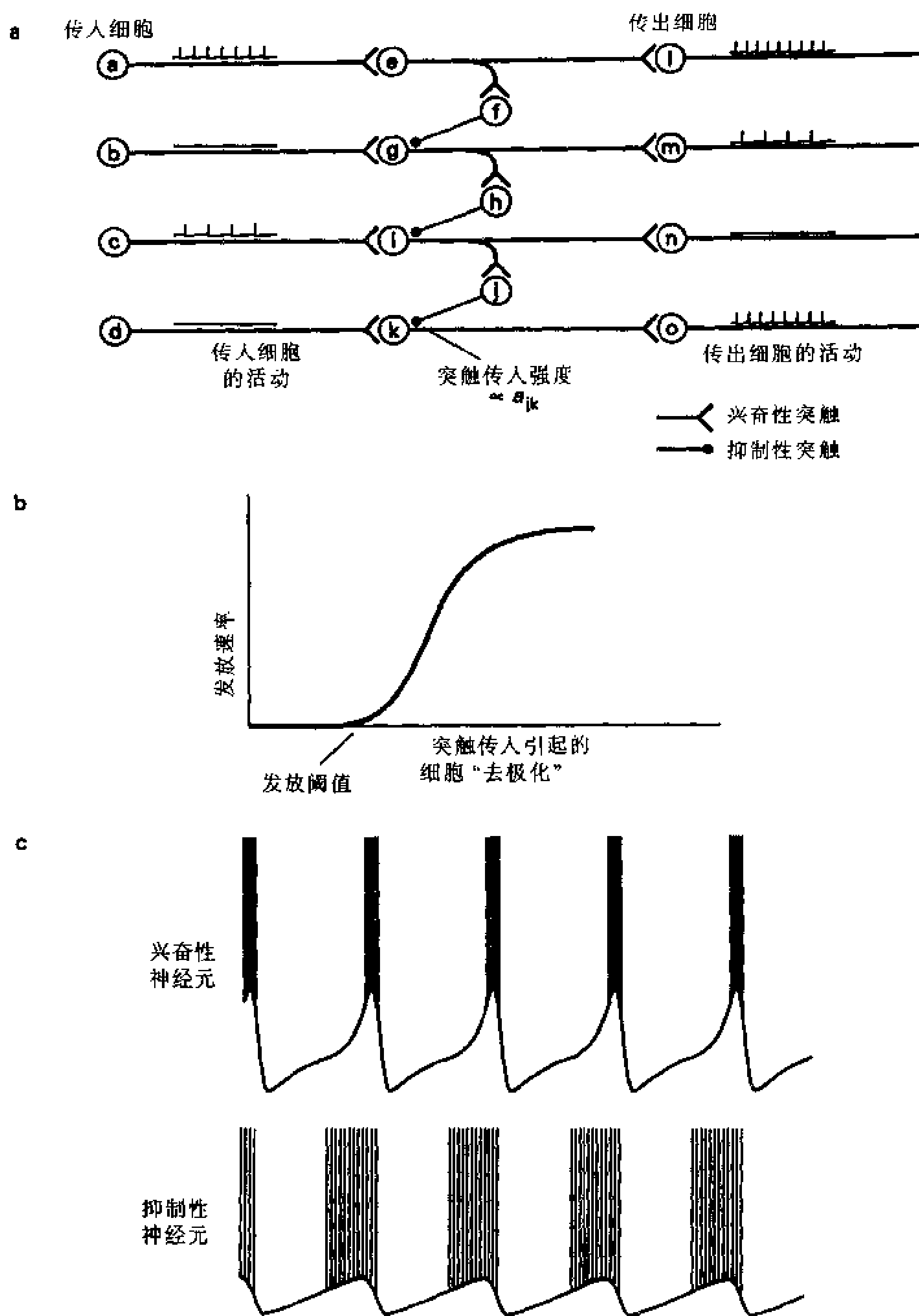


图 17-1 神经网络模型。a:突触权重分配于每个连接的神经网络模型。b:模型神经元的S形传入-传出函数。c:产生癫痫样活动的神经网络模型的冲动发放模式(修改自 Kaczmarek,1976)。

更快和更高级的计算机的问世,将会加快理论模型化的步伐,并使我们能够把了解的真正神经元的特性整合到适当的模型里面,这种状况无疑会改变。因此我们将介绍几种真实的神经网络,目的不是作详尽无遗的综述,而是要提供几个有选择的例子,说明神经元的

内在特性及它们的突触的交互作用如何形成网络的行为。

产生节律性运动的网络

中枢节律发生器　动物的许多行为,如行走和游泳,需要肌肉的节律性收缩。我们已经知道单个神经元在没有任何外来刺激的情况下能产生节律性冲动。但是多数节律性运动需要互相拮抗的肌肉协调地收缩和舒张,这种协同功能只能由支配不同肌肉的不同神经元组成的神经网络来完成。

理论上,存在多种方式构成节律性网络。例如,可以通过一反射链产生和协调节律性运动,在反射链内,肌肉内的感受器把每一块肌肉伸展或收缩状态的信息传到网络的别的部分,而这些信息是网络协同性地工作的基础。如果这是真实情况的话,肌肉本身就是网络的整合部分。然而对于已经作了较详尽研究的多数节律性网络来说,似乎并不是这么回事。而是有一个**中枢节律发生器**(central pattern generator)向不同的肌肉发出传出模式的信息,即使缺乏来自肌肉的直接反馈信息,神经元网络也能产生适当模式的节律性兴奋。(然而特别要记住的是,虽然感觉性反馈信息对动物的基本节律性运动常常不是必须的,但是这种反馈对塑造动物的行为模式以适应客观世界是必不可少的。

交互抑制的网络可产生节律性运动　能使两块不同的肌肉交替收缩和舒张的最简单的环路仅由两个神经元组成,每一神经元与另一神经元形成抑制性突触(图 17-2a)。这样的环路产生节律性传出冲动时,并不需要在缺乏别的突触传入时神经元本身就是活动的,而是神经元需要具备**抑制后反弹**(postinhibitory rebound)的能力。简单来说,是指在细胞的膜电位短时超极化后,细胞变得比平时更易兴奋,当细胞膜返回正常的静止电位时,可能会产生一个或多个动作电位。这种现象在神经元中相当普遍。如图 17-2b 所示的实验,当动作电位由超极化电流脉冲诱导产生时,这种动作电位通常称为**阴极阻断脉冲**(anode break spike)。在某些情况下,抑制后反弹可解释为内向电流,例如电压依赖性钠电流或 T 型钙电流,在静止电位时是部分失活的。假如由抑制性传入冲动引起的暂时超极化,部分地解除了这种失活,动作电位的阈值就会变得更加负值。当细胞朝向静止电位去极化时,增加的内向电流在失活再次发生前触发一个动作电位。

基于简单的双神经元回路的网络确实存在,而且在某些种类动物的运动方面起作用。图 17-2c 表示**海若螺**(clione,一种小型海洋软体动物)身上的两个神经元的激活。这种动物通过移动一对翼状结构(称为**侧足**,parapodia)交替向背侧和腹侧弯曲在海里游动。游泳的中枢节律发生器的主要成分似乎由 4 个游泳中间神经元组成(图 17-2c)。一个上摆神经元和一个下摆神经元位于神经系统的两侧,上摆神经元的动作电位对下摆神经元产生抑制性突触后电位(IPSP)。由于抑制后反弹的作用,下摆神经元在 IPSP 终止时产生动作电位,这样继而触发了对上摆神经元的 IPSP。因此持续的乒乓球样活动在该两个神经元的网络内回荡,并传达到支配侧足肌肉的运动神经元,产生节律性游泳运动。

理论上,有不只一种方法设计一个即使只有两个神经元的振荡网络。例如,如果单个神经元不产生抑制后反弹,而是发放易于作适应性调节(见图 3-12b),在有持续的兴奋源提供给细胞的前提下,如图 17-2a 所示的回路能产生交替的动作电位爆发。在这里,重要

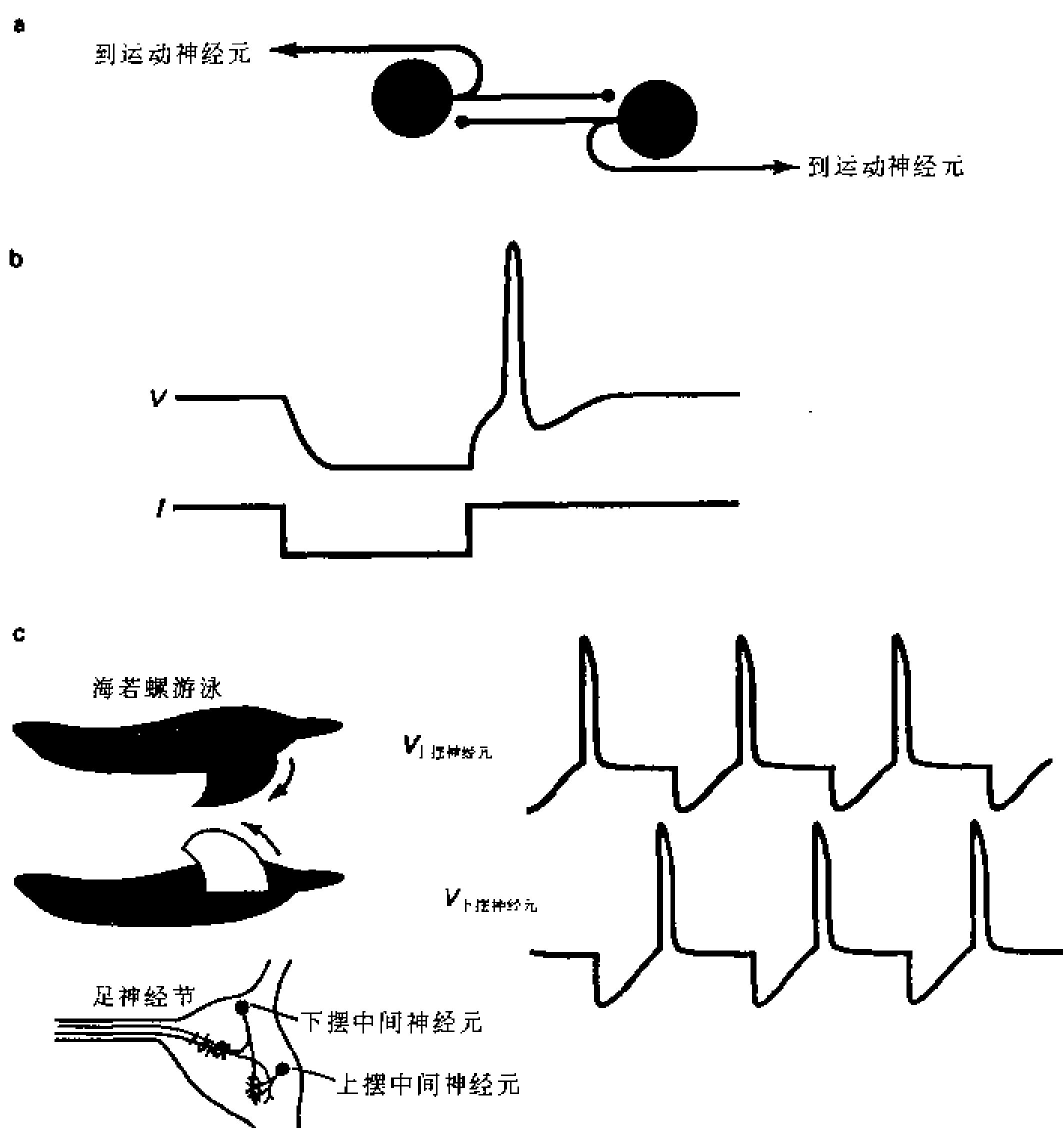


图 17-2 交互抑制。a：使两块肌肉交替收缩和舒张的基本网络。b：超极化电脉冲后的阴极阻断脉冲。c：海若螺游泳时的中间神经元的活性，由 Satterlie (1985)进行的研究。

的一点是，单个神经元的特殊电特性是决定下列各点的主要因素：①网络是否振荡，②振荡的具体类型（单一动作电位、爆发、或一些其他类型），③节律的准确定时。最后一点尤其重要，因为它直接转化为动物的行为。

表 17-1　已进行过分析的振荡神经网络举例

物种	振荡器位置	控制的行为
海若螺	足神经节	游泳
海洋鼻涕虫	脑和胸膜神经节	游泳
带刺龙虾、龙虾、蟹	胃肠神经节	节律性胃运动
龙虾和蟹	心神经节	心脏肌肉节律性收缩
水蛭	节段性神经节	心跳频率及游泳
七鳃鳗	脊髓	游泳

多神经元网络具有弹性　多数神经系统内的中枢节律发生器比简单的互相抑制的两组神经元要精密得多，因而功能更多。但是，网络越复杂，实验者越难揭示使网络系统工作的因素。表 17-1 列出了一些系统，这些系统已成功地应用于分析那些控制多种节律性行为的神经元间的交互作用详情。这类研究多在无脊椎动物身上进行，主要是因为容易分析无脊椎动物的神经元内在特性及其与动物行为的关系。这里我们以甲壳类动物的胃肠神经节为例，简单地总结一些以前学过的课程。

甲壳类动物的节律性神经元活动

虽然受到美食家轻视，但是有棘龙虾和蟹的胃为许多神经生物学家带来了乐趣。这

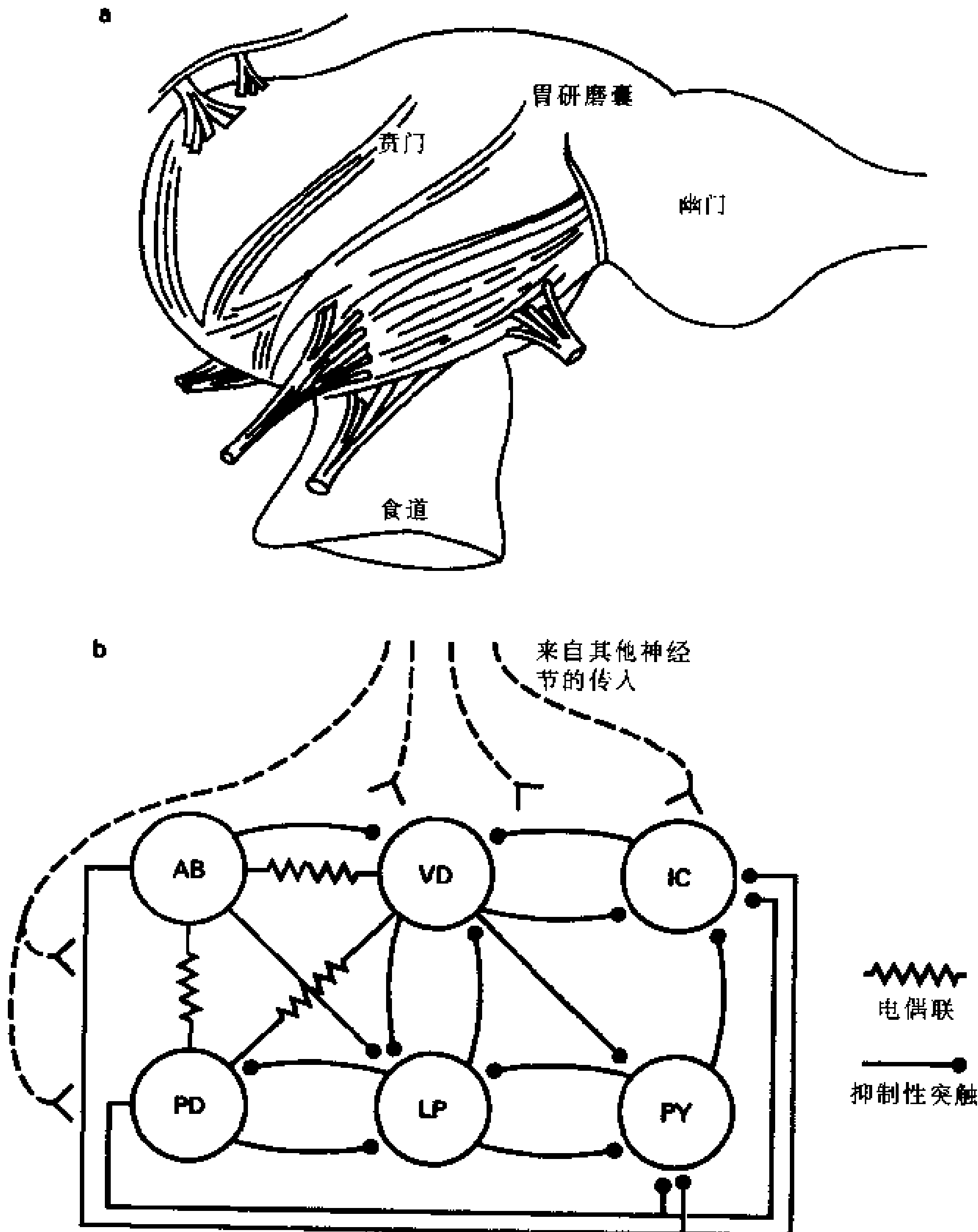


图 17-3　龙虾的胃。a：胃的示意图(Dickinson 和 Marder，1989)。b：幽门网络的神经元的相互作用。

些甲壳类动物的胃分成三部分：贲门、胃研磨囊和幽门(图 17-3a)。食物通过食道进入胃，随着它依次通过这三个部位而被消化。这三个部位肌肉的节律性收缩使食物受到物理性研磨和以一种类似于人的咀嚼和吞咽的方式使食物通过胃。

胃肠神经节　胃的肌肉由含有 30 个神经元的**胃肠神经节**(stomatogastric ganglion)的神经元支配，不同组神经元支配胃的 3 个不同区域。首先我们只考虑幽门的中枢节律发生器，该发生器由仅仅 14 个神经元组成，这些神经元之间的突触联系如图 17-3b 所示。8 个相同的 PY 细胞(在图内为简化起见以一个神经元表示)、两个 PD 细胞、VD、LP 和 IC 细胞全都是直接支配幽门肌肉的运动神经元。AB 细胞是中间神经元，只在神经节内形成联系及传送信息到该神经节系统的其他部分。请留意，所有的化学突触是抑制性的，每对神

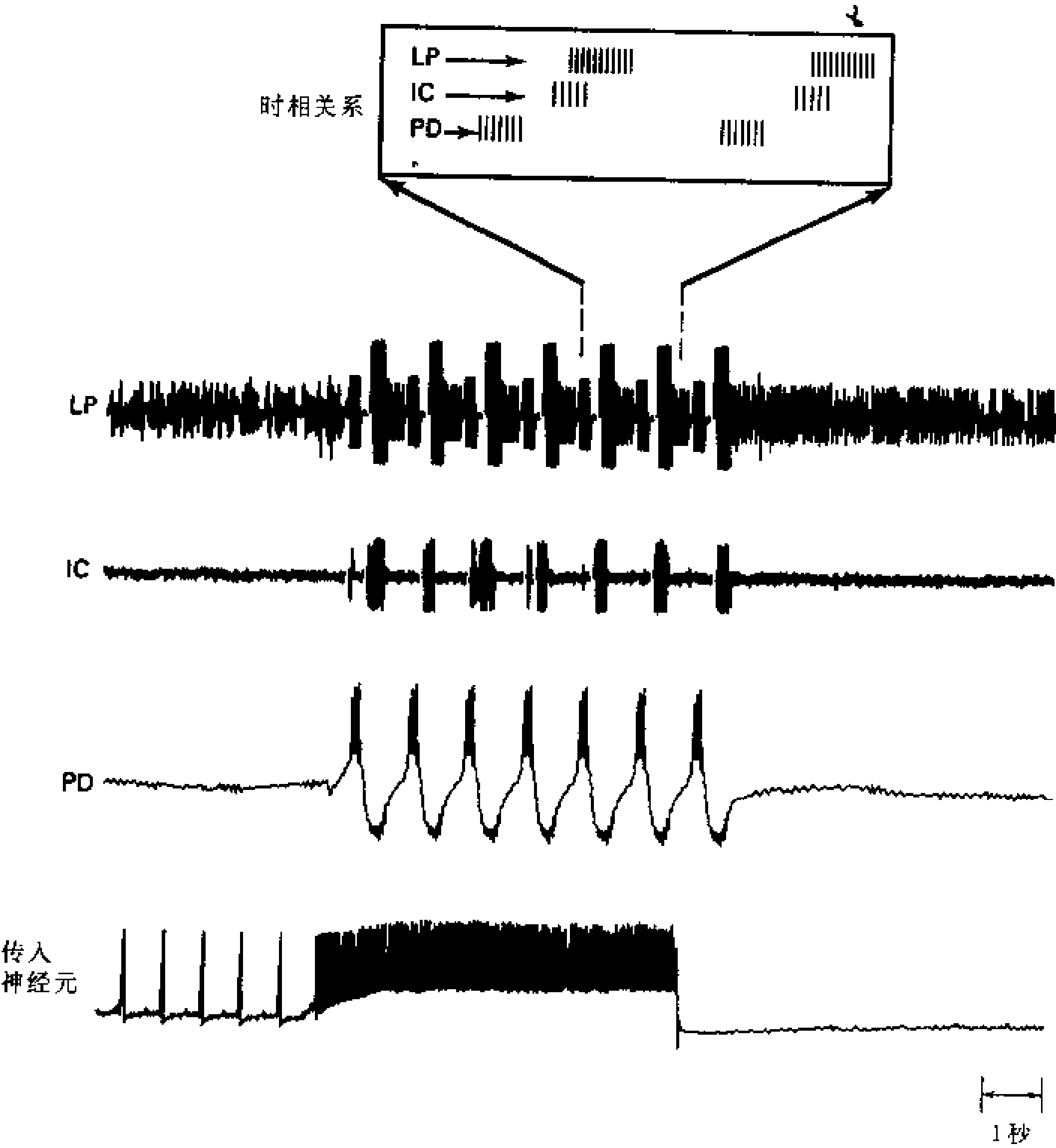


图 17-4　幽门节律。在存在到神经节的传入的情况下，刺激神经节的一个神经元，在幽门回路的 3 种神经元(LP, IC 及 PD)内记录到节律性发放(Nusbaum and Marder, 1989)。因为记录到 LP 和 IC 神经元的动作电位的细胞外电极置于到幽门肌肉的神经表面，所以也记录到其他神经元的活动。顶部插图表示两个循环的 3 种细胞间的位相关系。

经元之间的相互抑制是网络的主旋律。而且，一些神经元对子通过电突触被偶联在一起。

如图 17-4 所示，可用单个神经元内微电极，或者将细胞外电极放置于含有 LP 和 IC 等运动神经元支配不同肌肉的轴突的神经处，记录幽门神经元的节律性传出。在不同神经记录到 3 个不同时相的爆发性放电冲动。

有关幽门环路产生的节律的最重要的一点是，它依赖神经系统的其他部分的传入，只有当来自其他两个神经节的传入完整时，才能记录到如图 17-4 所示的电活动。当阻断这些神经节到胃肠神经节的神经时，节律性爆发停止。并不是因为传入冲动本身产生任何节律性活动，而是来自其他神经节的传入的神经递质似乎起到局部激素的作用(见第 9 章)。当传入被激活并释放出激素时，幽门神经元获得产生节律性爆发所需的特殊电特性。AB 神经元动作电位的重复性爆发类似于第 12 章谈到的海兔的 R15 神经元，但是与 R15 神经元不同的是，幽门神经元需要其他神经节的调节物质以产生这些爆发性冲动，因此这些神经元可称之为**条件性爆发器**(conditional burster)。

幽门网络的其他神经元不是内源性爆发性放电神经元，但是在短暂的去极化情况下，它们能产生动作电位的单一的长爆发。这种爆发的出现是由于持续的、再生式的去极化比短暂的刺激持久，这种再生式的去极化有时命名为**平台电位**(plateau potential)或**驱动电位**(driver potential)(图 17-5)。同样地，只有在其他神经节的传入已经激活的情况下，这种平台去极化才会出现。

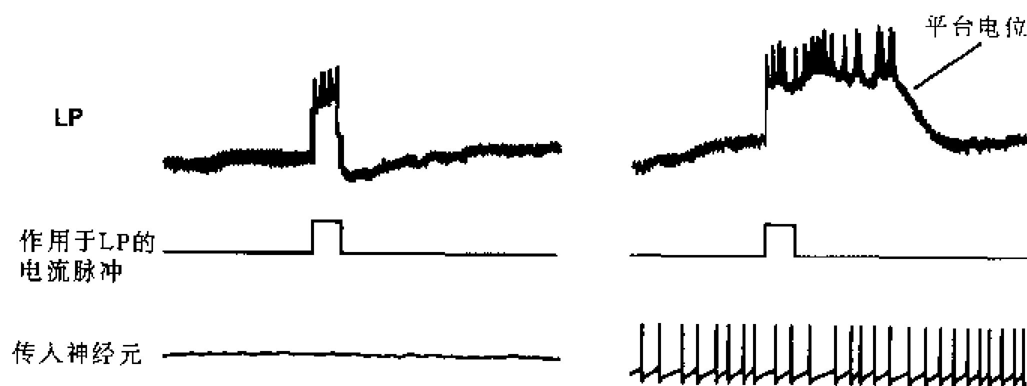


图 17-5 一个神经元的传入活动引发 LP 神经元的平台电位(Moulins and Nagy, 1985)。

尽管相互抑制可产生节律性活动，但并不是形成幽门节律的主要因素，而是单个神经元的内在爆发性驱动网络。突触的相互作用和平台电位给不同的神经元活动之间提供了合适的时相关系和延迟。只有考虑到网络内的单个神经元的**内在**电特性时，才可能解释驱动肌肉收缩的动作电位爆发性放电的时程和特点。

调节性神经递质可能“设计”不同的网络　在餐馆一段时间的冷静观察足以使人相信，人的咀嚼和吞咽不是一个简单的过程，而是能根据食物的性质和就餐者的心理状态采取多种力学模式。龙虾也是如此，龙虾的幽门回路的节律性传出不是像前面所述一成不变的。当在未受损伤的动物身上记录时，不同运动神经元的活动的时相、时程和量随着动物行为的时间和模式发生变化。

除了简单地维持节律，来自其他神经节的传入还形成不同的活动模式。正如我们将会看到的那样，由于不同的递质物质能有效地“再连接”网络形成不同配置，因而形成不同的活动模式。到胃肠神经节的传入所用的大量的递质已经确定，包括乙酰胆碱、GABA、5-羟色胺、多巴胺、组胺、章鱼胺及**直肠素**(proctolin)和FMRF(心肌肽，一种四肽)酰胺样肽等几种神经肽。因为许多这样的物质起到局部激素的作用，因此简单地应用这些递质于离体神经节的外部营养液中可模拟传入通路的持续发放。在这里我们将比较两种胺类——5-羟色胺和多巴胺应用于胃肠神经节的作用。

图17-6a说明5-羟色胺和多巴胺对脱离突触传入的单个幽门神经元特性的作用。两者均能诱导中间神经元AB的内源性爆发性放电；与之形成鲜明对照的是，在缺乏突触传入的情况下能发出低频率脉冲(而不是爆发性放电)的PD运动神经元受到多巴胺的强烈抑制，而5-羟色胺则不会；两者均能强烈抑制VD神经元；多巴胺能兴奋LP和PY神经元，而不被5-羟色胺所抑制；最后，两者均能兴奋IC神经元。网络内不同神经元的抑制或兴奋导致回路功能重组。将胃肠神经节从正常时能使它们爆发放电的来自其他神经节的传入分离出来，使胃肠神经节不能发出爆发性放电，但当把5-羟色胺或多巴胺加到这些胃肠神经节时，它们能恢复爆发性节律(图17-6b)。然而不同的胺类产生不同的节律。事实上，两种节律给人的印象是由非常**不同的网络**产生的，这一点从某种意义上来说是真实的。

对回路仔细考查就能明白这一点。将受到5-羟色胺强烈抑制，或仅仅不被5-羟色胺兴奋的神经元，如VD、LP和PY等细胞从激活的回路中移除，这样，在5-羟色胺的单独作用下，AB-PD神经元组的内源性活性能有效地驱动回路(图17-6b)。另一方面，在多巴胺的作用下，AB神经元的内源性爆发以及LP和PY细胞间的相互抑制均形成回路的传出。因此，5-羟色胺和多巴胺对从运动神经元到肌肉的冲动的模式和时程有不同的作用。也已发现其他神经活性胺和肽类诱发不同于5-羟色胺和多巴胺的回路的特征性配置。反过来，这些物质中的每一个诱发的回路传出，可修补活动的幽门回路，不同于当其他神经节的调节性传入的综合效应作用，因此，通过改变特定神经元的兴奋性或者个别连接的强度，可以获得大量不同的传出模式。

重叠的网络　　神经递质引起的神经元对环路的插入和删除并不局限于像幽门一样的单一网络，我们已经提到胃的3个不同区域由胃肠神经节的3个不同的振荡回路控制。取决于到神经节的传入的状态，一个神经元可能参与一个或多个这样的回路。例如，我们已经知道VD神经元是幽门网络的整合部分，但是，只有当其他神经节的的传入允许这一神经元产生由平台电位驱动的爆发放电时，它才参与幽门网络。当特定的感觉神经受到刺激时，这些传入受到抑制，VD神经元因而丧失爆发性放电的能力。当这种情况出现时，电特性改变使VD神经元受到产生贲门节律的神经元的驱动，贲门节律是比幽门节律慢得多的振荡。

这些发生于由少量神经元组成的网络的可变性的突出例子，强调了细胞内在特性在决定网络行为方面的重要性。不仅如此，它们还指出了神经元的电特性的调节变化能导致回路传出的改变，而初初看来会以为回路传出的改变需要突触连接的物理性重新排列。神经元电特性的这种调节的机制已在第12章谈到。

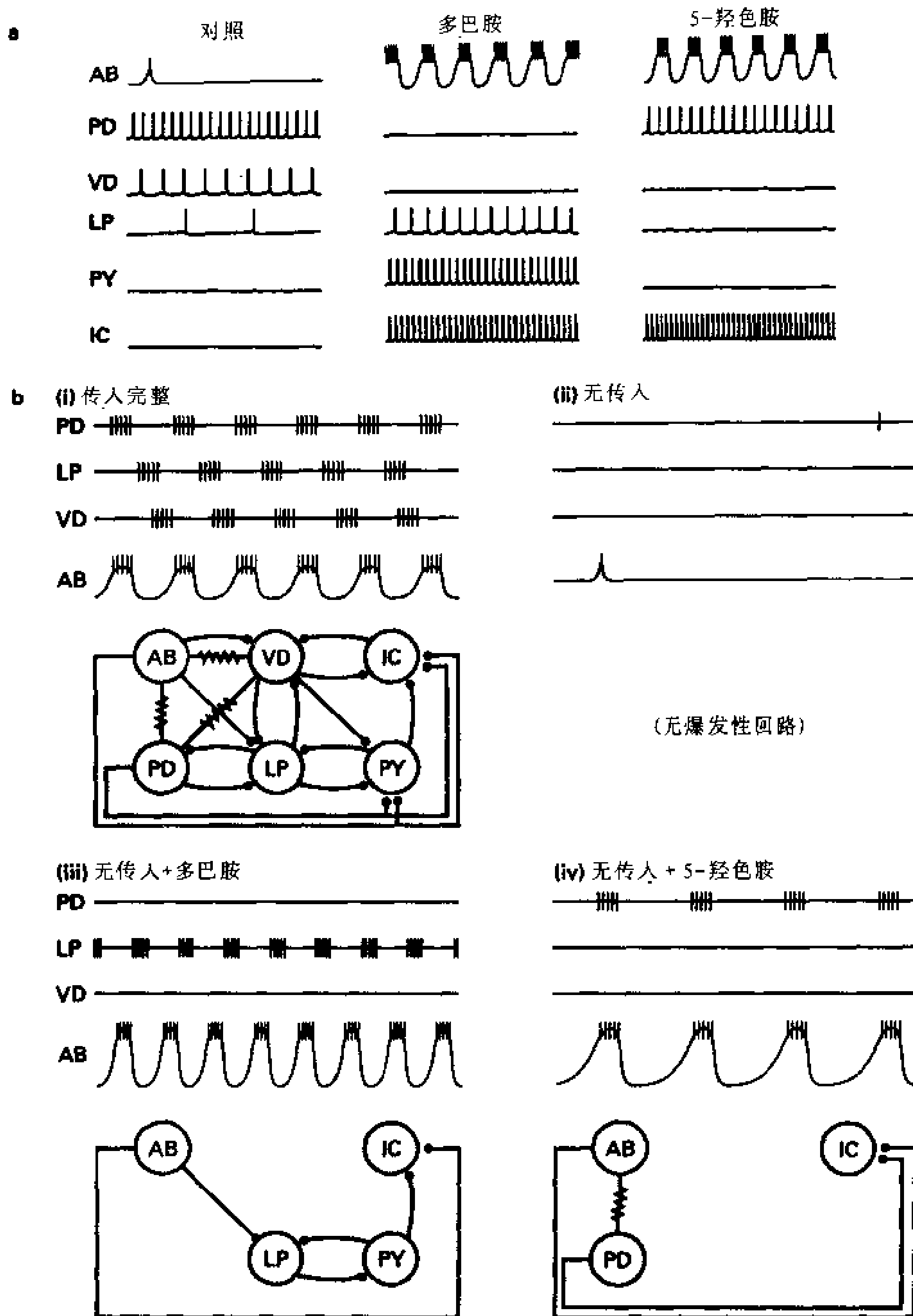


图 17-6 "重接"幽门网络。a：当消除与其他细胞的突触连接时，5-羟色胺和多巴胺对幽门回路的个别神经元的影响。b：5-羟色胺和多巴胺对完整幽门回路的影响。4 种条件下的活动模式以及有效回路图：(i)外部传入完整时的"正常"节律，(ii)无外部传入，(iii)无外部传入，但在神经节加入了多巴胺，(iv) 无外部传入，但加入了 5-羟色胺(Harris-Warrick and Flamm, 1986)。

神经元的指令系统

大多数动物的行为不会日以继夜地持续进行，肯定存在这样的机制，使诸如行走、进食、游泳和交配等活动启动和终止。而且，即使是相对简单的动物行为，也可能需要协调一系列明显独立的网络的激活或抑制，担负这些任务的是通常称为神经元的**指令系统**(command system)的结构。

在某些神经系统，单个**指令神经元**(command neuron)能控制相对复杂的协调反应。指令神经元的定义是，它的活动是触发一个完整的协同行为的必要和充分条件。例如，飞行中的蟋蟀躲避类似于蝙蝠发出的高强度超声波时，会收缩一组肌肉导致动物飞离超声波的方向。刺激单独一个已知神经元能触发飞行中的蟋蟀的这种行为。而且，当该神经元超极化时，动物对超声波便失去反应。然而在多数动物身上，决定重要行为的很可能不是单一的指令神经元，而是由神经元指令系统衡量运动的特定过程的正反两方面因素后，再发出选定的指令控制动物行为。就像节律网络的例子一样，对这些指令系统的详尽分析不在本书的讨论范围。但是我们将描述三个控制运动和生殖行为的神经元系统，重点放在这些指令系统的神经元的细胞特性上。

游泳的水蛭　　**医用水蛭**(*Hirudo medicinalis*)的身体呈节段状(图 17-7a)，当它游泳时身体呈波浪状运动，类似于鱼或蛇游泳的方式，水蛭体壁内肌肉的交替收缩和舒张导致这些运动。除了控制头和尾的神经元以外，腹神经索由 21 个神经节组成，每一个神经节支配每一个体节的肌肉。在游泳时，每个神经节运动神经元的动作电位的节律性爆发严密地定时，以便波浪状运动时，一个收缩波从水蛭的前部向后部推进。

图 17-7b 表示一个控制游泳的网络的简化图，数字和字母表示回路中的确定的神经元。就像较早时提到的例子一样，水蛭的游泳由中枢节律发生器的节律性传出引起。组成中枢节律发生器的神经元位于每一个节段的神经节内，而每一节段的活动必须与邻近节段相协调。部分原因是由于发生器更为复杂，不同神经元的内在特性的作用及它们可能受到的调节的程度不像胃肠神经节一样了解得那样清楚。但是，相互抑制肯定参与了产生节律性爆发。中枢节律发生器神经元的传出直接输送到支配三组肌肉的运动神经元。

对动物身体的短暂和强烈的机械刺激能诱发一阵游泳运动。看来至少两个层面的神经元根据从体壁的感觉神经元传来的信息发挥作用，然后才能启动中枢节律发生器。存在**触发神经元**(trigger neuron)和**门控神经元**(gating neuron)。感觉通路的刺激使触发神经元兴奋，而实验性单独刺激触发神经元就足以引起产生游泳的全部神经元活动。但是所诱发的游泳的持续时间明显超过了触发神经元短暂的兴奋时间，这是因为对触发神经元的短暂刺激引起门控神经元的更延长和更持久的冲动发放(图 17-8)。门控神经元的角色在某种程度上类似于较早时描述过的到胃肠神经节的传入冲动。中枢节律发生器的节律性活动的持续时间仅仅和门控神经元的兴奋时间一样长。但是门控神经元本身不能产生节律。

只存在少数触发神经元，位于前神经节。它们接受分布于水蛭全长的大量感觉神经

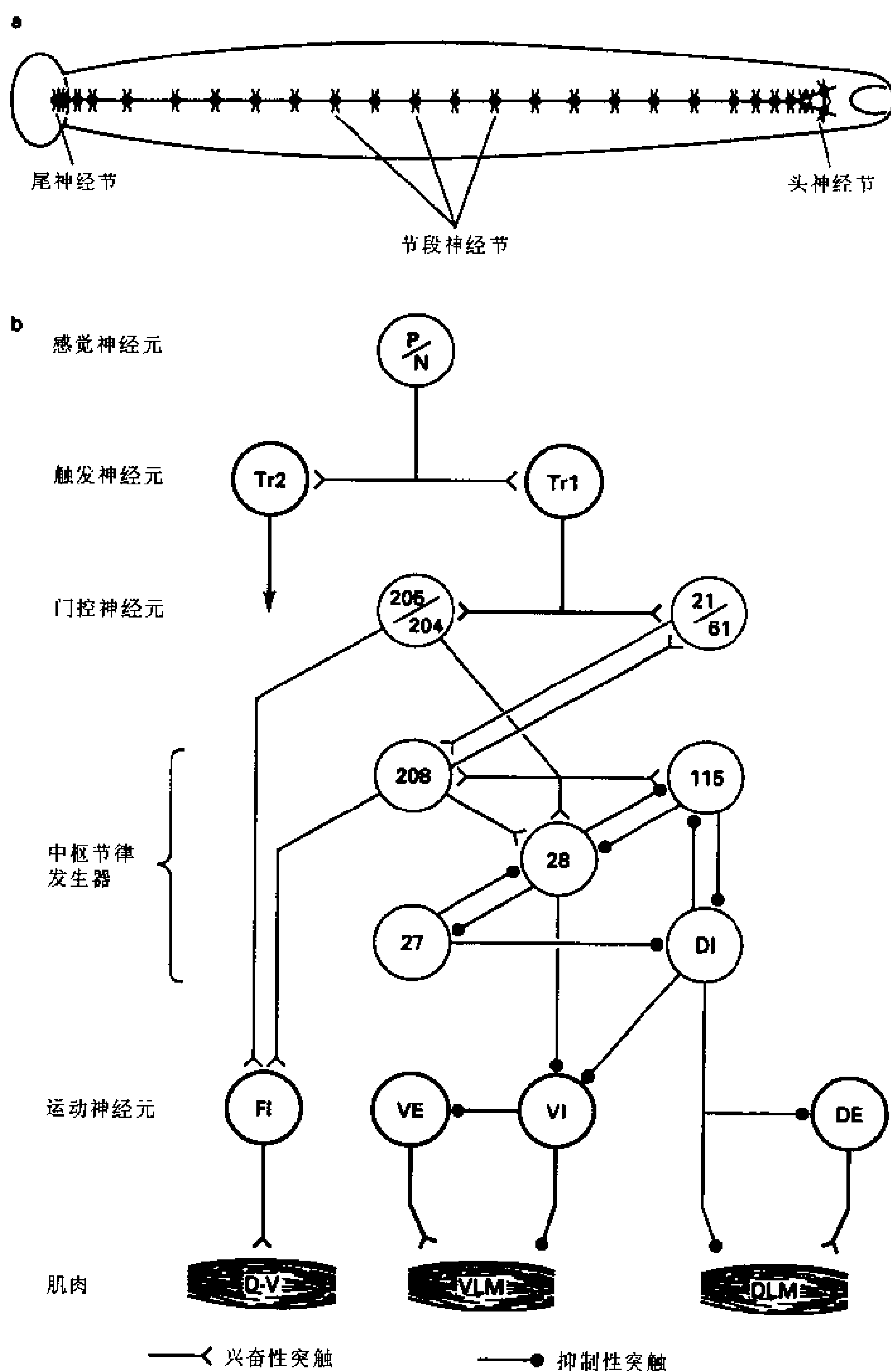


图 17-7　水蛭。a:水蛭神经系统由节段性神经节链组成。b:控制水蛭游泳的网络的简化图(改自Friesen, 1989)。

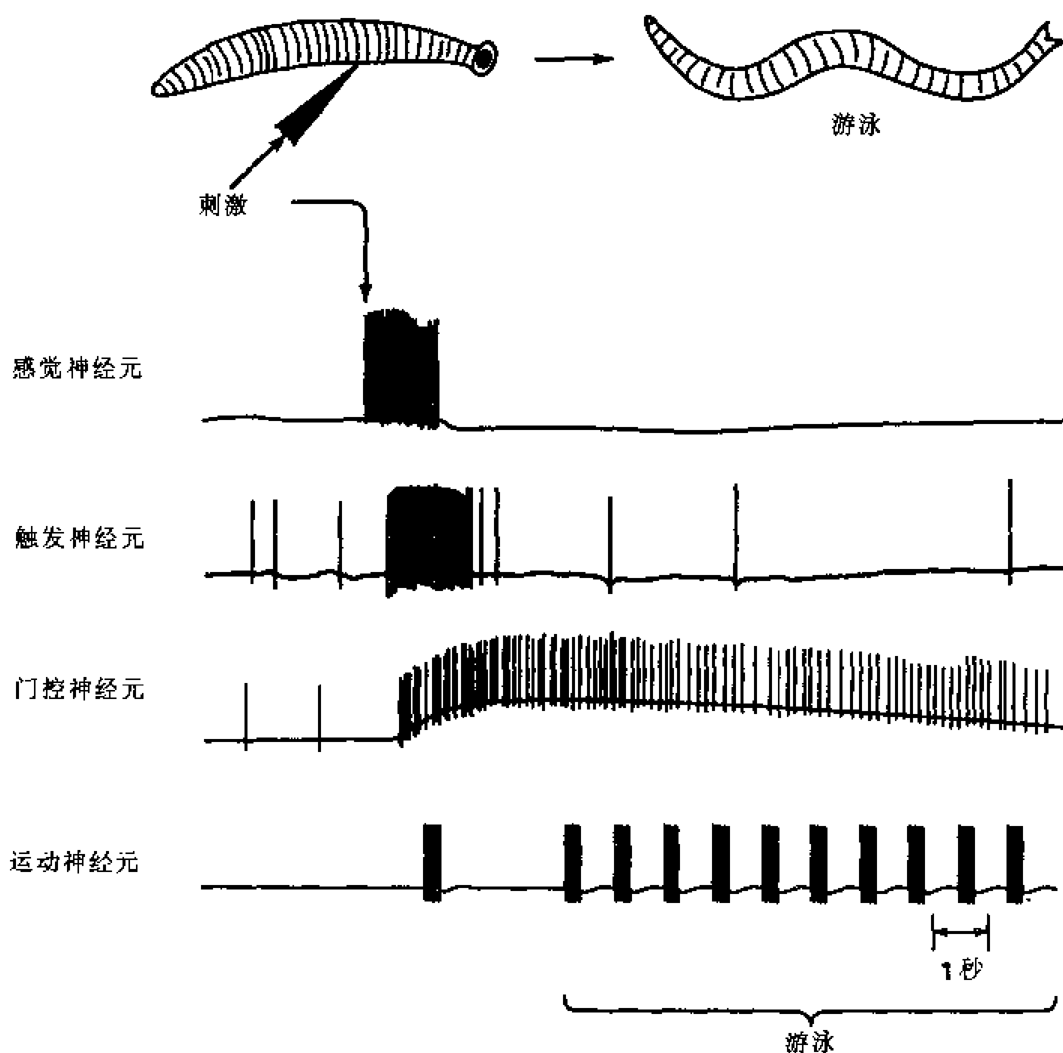


图 17-8 触发神经元。Brodfuehrer 和 Friesen(1986)进行的实验显示,感觉神经元及 Tr1 神经元(触发神经元)的暂时性活动引起门控神经元和运动神经元传出冲动的更延长和更持久的发放。

元的传入,继而投射到分布于所有节段的大量门控神经元上。也许可以认为触发和门控神经元一起组成了游泳行为的指令系统。

一个有待解答的问题是,触发细胞的短暂刺激如何导致门控神经元的持续活动。答案很可能是细胞间突触所用的神经递质的作用和两种细胞的膜特性。虽然似乎在第 12 章讨论过的膜的长期变化特性肯定存在,但是这些特殊的水蛭神经元的细胞特性仍不清楚。水蛭游泳实验的美妙之处,在于它利用了一个各个层面都能确定的神经元构成的真实的网络,为短暂的行为刺激如何能够引起较长和相对复杂的行为,提供了一个细胞学解释。

"较简单的"脊椎动物的移位运动 在本章,单一神经元的细胞特性如何塑造网络的行为的例子多数来自无脊椎动物的研究工作并非偶然。在各种无脊椎动物身上,确定单个神经元的性质相对容易,以及组成网络的细胞数量较少,使无脊椎动物的系统实验上易于处理。哺乳动物脑的复杂性妨碍对它的详尽研究,尽管如此,低等脊椎动物如七鳃鳗等的神经元比哺乳动物少得多,使用这些动物,已经能够证实膜特性的调节决定网络如何

工作。

美洲鳗样的七鳃鳗通过身体左右两侧的交替收缩游泳，收缩频率的变化从每5秒1次的缓慢游动，到每秒10次的快速游动。组成节律发生环路的神经元位于各个脊髓节段，类似于水蛭的神经系统的组成方式。这些节律发生环路的主要成分是兴奋性中间神经元(图17-9a的E)和两种抑制性中间神经元(L和C神经元)。每一侧的C神经元抑制同一脊髓节段及较低节段的对侧C神经元，形成我们已经很熟悉的相互抑制的模式。这一回路可以说明到运动神经元的传入的基本交替模式，来自肌肉的反馈进一步塑造这一模式，肌肉反馈的方式来自牵张感受器神经元(图17-9a中的SR-E和SR-I)的兴奋性和抑制性传入。

运动系统整体水平的活动由与水蛭门控神经元相似的脑干内的神经元决定，这些**网状脊髓神经元**(reticulospinal neuron)(图17-9a中的R)的活动启动游泳开始并控制网络的

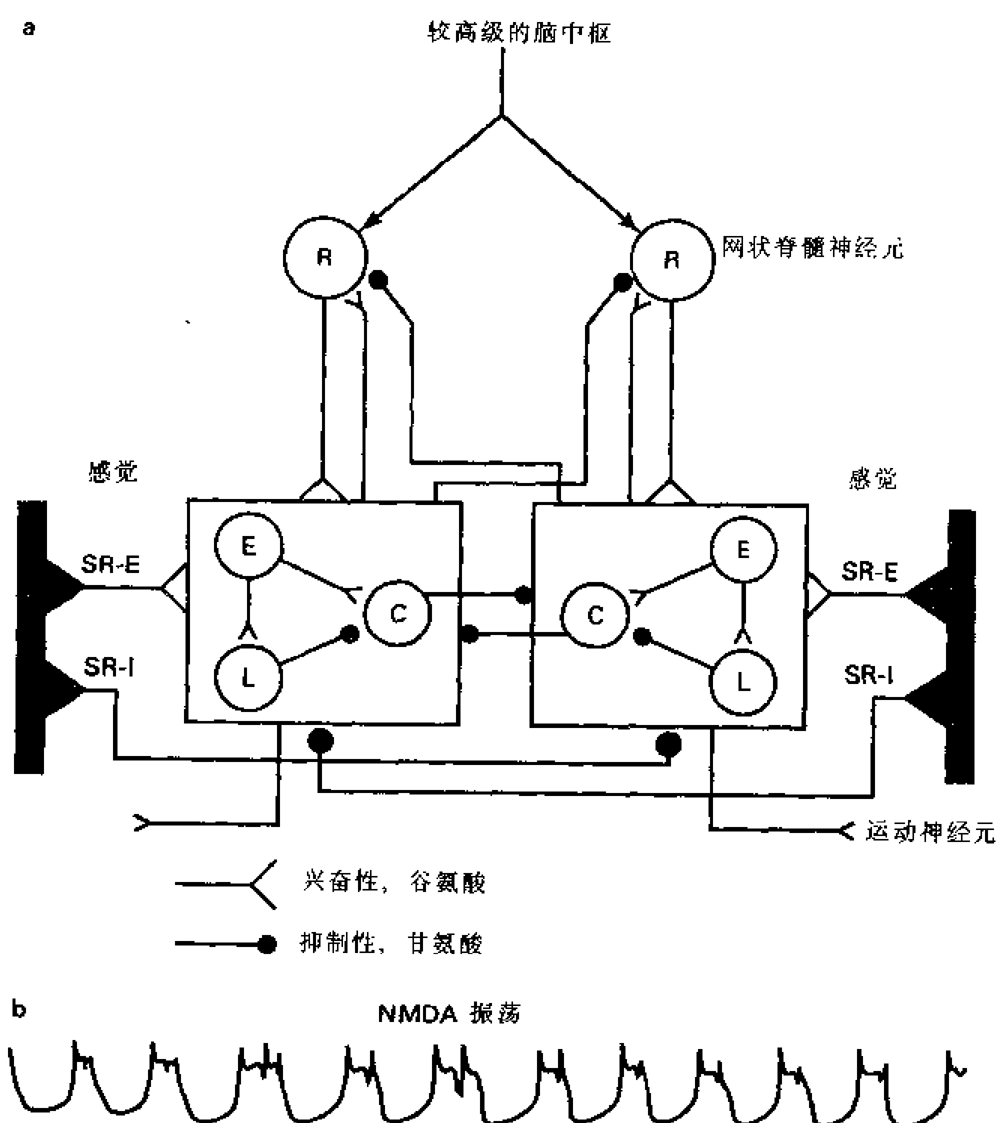


图17-9　七鳃鳗怎样游泳。a:一个脊髓节段的节律发生环路及其来自网状脊髓投射神经元的传入的示意图。b:NMDA作用于节律发生神经元诱发速度生成电位的振荡(改自Grillner et al.,1994)。

整体活动。R 神经元以谷氨酸为神经递质，谷氨酸激活遍布各节段网络的所有神经元上的 NMDA 和 KA/AMPA 受体。R 神经元的传入除了简单地提供兴奋性以猛然启动传出模式，还在产生节律的网络的神经元内诱发平台电位。我们已经讨论过平台电位在产生胃肠神经节的节律性行为方面的重要性。而对于七鳃鳗，节律发生细胞诱发的平台电位对缓慢移动尤其重要，因为它们使得网络维持动作电位持久稳定地爆发。

胞浆膜内的电压依赖性离子通道的活动引发平台电位。就像发生平台电位的其他细胞一样，电压依赖性钙离子通道在平台电位的持续去极化期起作用。不仅如此，NMDA 受体在七鳃鳗节律发生神经元中扮演了重要的角色。事实上，在河豚毒素存在从而阻断网络神经元之间的联系的情况下，仅仅把 NMDA 加到中间神经元就足以诱发反复的平台电位(图 17－9b)。不但 R 神经元的传入，而且 E 中间神经元的传入也能激活 NMDA 受体。在第 10 章，我们已经清楚，NMDA 受体可想象为由谷氨酸门控的电压依赖性阳离子通道。由于负膜电位时细胞外镁离子阻断通道，电压依赖性增加。在较高正电位时，镁离子被驱出通道口，使得钠和钙离子通过通道流动，从而使细胞去极化(见图 10-14)。正是这一电压依赖性形成平台电位。来自 R 神经元的脉冲激活 KA/AMPA 受体，首先引起节律发生中间神经元的小的去极化。但是随着膜去极化，NMDA 受体通道开始开放。该通道的开放随后产生更大的去极化，使开放的 NMDA 受体通道进一步增加，产生大而持续的平台电位的去极化相。每一个平台电位的终止相信是由于去极化期的钙内流，钙内流导致钙依赖性钾通道的延迟激活，从而使膜超极化返回静止状态，以便新一轮平台电位可能开始。

从无脊椎动物的神经网络的研究我们已经了解神经元内在电特性的作用，这些认识的许多方面同样适用于七鳃鳗。例如，抑制后反弹的程度及节律发生神经元(见图 3-12)的顺应速度是环路产生特异性传出的关键。而且，像胃肠神经节一样，这些参数由以 5－羟色胺、多巴胺、GABA 和生长抑素等为调节递质的传入所调节，从而重塑网络以产生多种频率和模式的运动。

袋细胞神经元　我们现在转到海洋蜗牛**海兔**身上的另一个神经元指令系统。海兔的腹神经节含有两群细胞，各由 200 到 400 个细胞组成，控制一系列非常持久的生殖行为，最终导致产卵。交配和产卵等生殖行为非常复杂，即使在海兔身上也是如此。因此，控制这些行为的网络联络图了解较少。相对而言，产卵的指令通路神经元，即**袋细胞神经元**(bag cell neurons)的细胞和分子特性已研究得很透彻。

正常情况下，袋细胞神经元不显示任何自发的电活动。但是，对来自其他神经节的传入的暂时性刺激，袋细胞神经元会产生去极化和发放持久的动作电位**放电**(discharge)(图 17-10a)。虽然刺激只持续数秒，但是所激发的放电通常持续 30 分钟。在放电开始时，神经元发放很活跃，持续约 1 分钟。此后，稳定在较慢的冲动发放，持续较长时间。在该时期内，动作电位的高度和宽度增加(我们在第 12 章已经讨论过动作电位形态的这些变化的分子机制)。当放电在动物身上出现时，紧跟着的是一系列固定的行为。如果动物正在进食，它立即放弃进食，然后寻找垂直产床，例如岩石壁，开始一系列特征性的头部移动动作，然后把卵产在岩石上。这些行为的出现，是因为放电期的袋神经细胞释放出的神经肽的作用。

在第 7 章，我们讨论了袋细胞神经元内被裂解为神经活性肽的前体蛋白的结构(图 7-6b)。袋细胞神经元释放的主要神经活性肽是**产卵激素**(egg-laying hormone, ELH)，当把该激素注射到动物体内，会引起产卵及其相关行为。在放电期，ELH 被释放到腹神经节局部的其他神经元，引起几个已知神经元的电特性改变(图 17-10a)。ELH 也直接释放于血液，到达周围靶组织和其他神经节的神经元，影响控制进食等活动的网络神经元的电特性。通过这种方式，ELH 协调控制所诱发的行为的不同组成部分的神经环路的变化。除 ELH 外，前体蛋白也裂解产生几个较小的肽，称为**袋细胞肽**(bag cell peptides, BCP)(图 7-6b)。这些肽也起到神经递质作用，改变腹腔神经节其他神经元的活动。不仅如此，BCP 作用于袋神经细胞本身的**自身受体**(autoreceptor)，进一步影响它们的兴奋性。有趣的是，在神经递质分泌颗粒产生的过程中，BCP 并不包含在含 ELH 的颗粒内。因此，可能 BCP 分泌的时间或部位不同于 ELH。然而 BCP 在该行为中的作用仍不清楚。

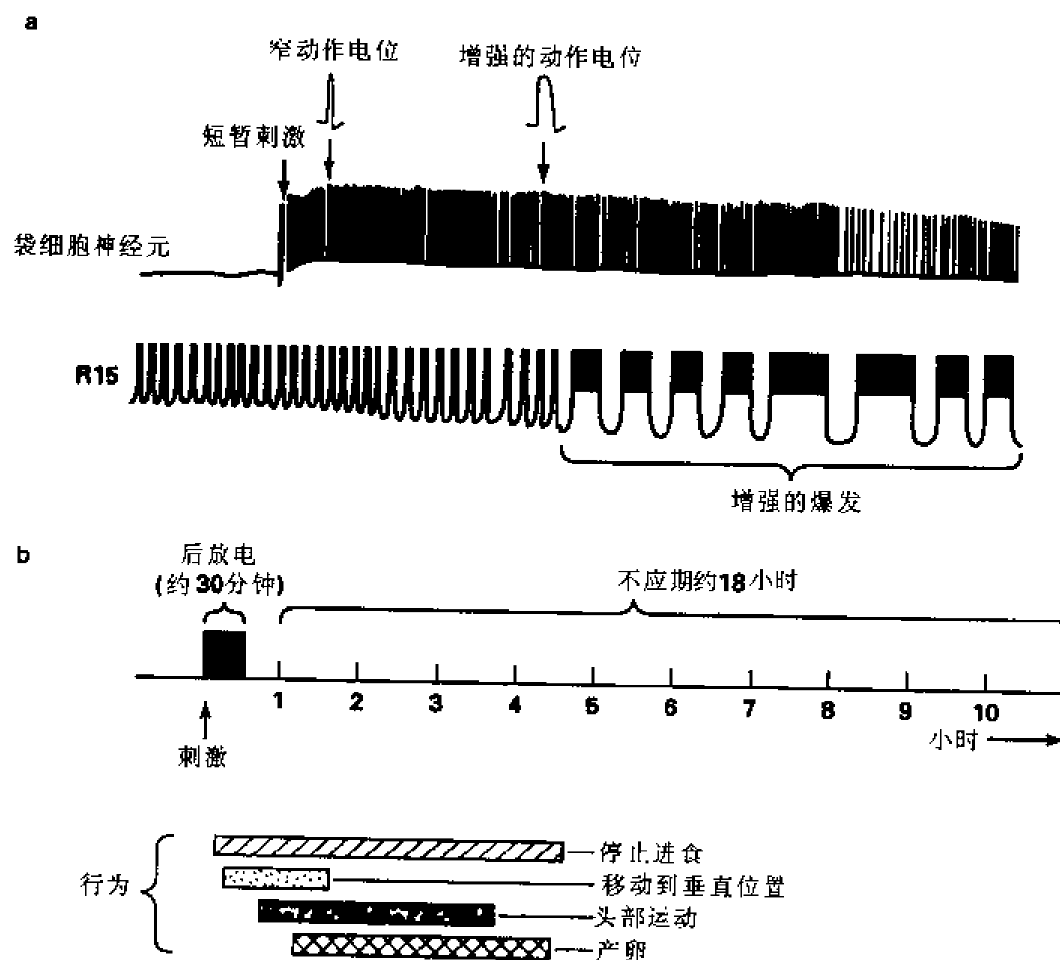


图 17-10 袋细胞神经元。a：袋细胞神经元内的后放电及 ELH 对 R15 神经元的作用。b：袋细胞神经元兴奋性变化的时间范围(Conn and Kaczmarek, 1990)。

虽然高强度电刺激有时候能触发短期放电，但在 30 分钟放电末期，不可能激发另一个持久的放电。这一抑制期有时称为**不应期**(refractory period)(不要和第 3 章谈到的动作电位不应期混淆)，逐渐从该抑制期恢复大约需要 18 小时。由于放电触发的一系列行

为可持续几个小时，在此行为期间，袋细胞神经元处于不应状态(图 17-10b)。因此，延长的不应期可预防进行中的行为再次启动，以及限制这种行为被诱发的频率。总而言之，通过它们一系列内在特性的改变(其机制在第 12 章讨论过)，袋细胞神经元在导致产卵的一系列行为中，起复杂的控制开关作用。

行为等级　对另一海洋软体动物**侧鳃**(pleurobranchaea)的研究引出一个有趣的概念：行为以**等级**(hierarchies of behavior)方式组成。例如，已发现产卵行为抑制其他行为，包括进食，而进食优先于交配(图 17-11；人类的许多行为过程表现出相反的优先次序)。由于已经能够追踪侧鳃的许多这些行为的流程图，因此可以验证这些行为等级的细胞联系。已发现负责进食和产卵的指令系统激活时，能抑制控制交配和移位运动的网络。这一例子强调了考虑不同神经网络的相互作用在决定动物行为模式方面的重要性。

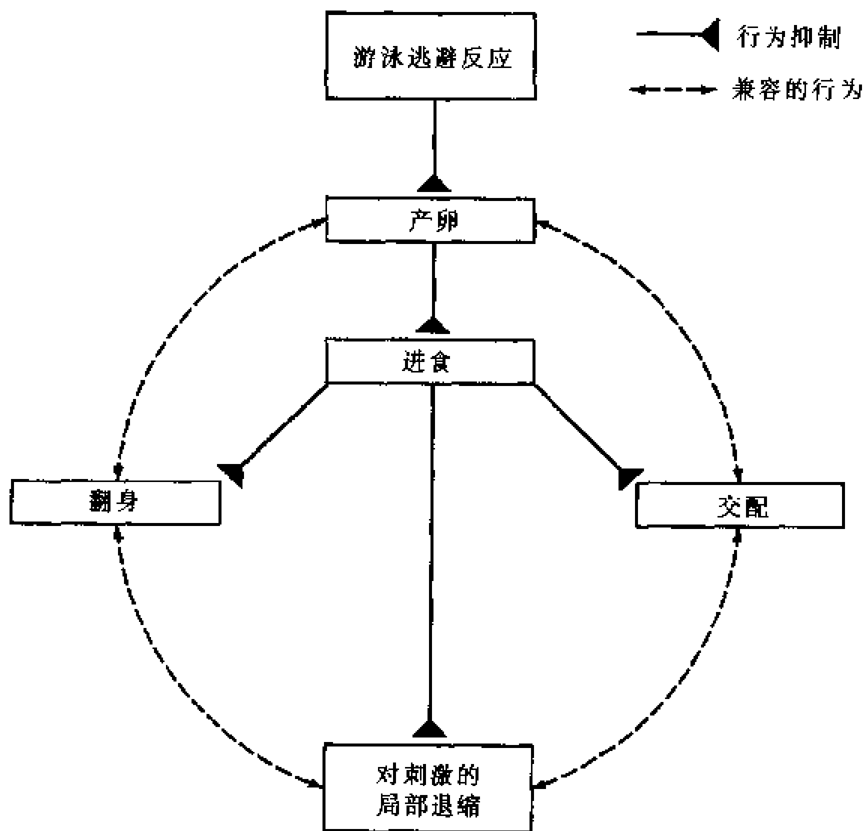


图 17-11　行为等级。侧鳃的行为等级(W. J. Davis et al. 其同事，1979)。

电突触网络

在我们已经谈到的网络中，神经元间的许多相互作用通过化学突触和局部激素的作用而发生。但一定不要忽略另一重要的网络类型，在这种网络内，细胞间的交互作用通过由缝隙连接介导的电突触进行(见第 7 章)。在这一网络，神经元由电偶联，没有任何化学性中介，动作电位从一个细胞传导到下一个细胞。例如，事实上前面讨论过的一些细胞，

胃肠神经节内的 AB 和 PD 细胞之间是电偶联，因此在爆发时倾向于同步发放。各个袋细胞神经元间的电突触起到使这一群神经元同步发放冲动的作用。七鳃鳗的网状脊髓投射神经元和节律发生细胞之间的缝隙连接也使这些细胞兴奋。

但是，重要的是认识到电偶联的作用可能不仅仅是简单地使两个细胞协同如一，已发现许多由电突触偶联的神经元组，包括脊椎动物和无脊椎动物，并不同时发放冲动。在某些电偶联网络，动作电位通过网络的振荡可产生持续的爆发冲动，当所有神经元达到同步放电时，爆发冲动终止。例如，已发现这种爆发冲动在海洋鼻涕虫蝾螈(tritonia)的逃避游泳中起作用。当神经元之间的电突触受到化学突触传入的调节时，网络的工作状态会发生其他改变。例如鱼和龟等脊椎动物视网膜内一种称为**水平细胞**(horizontal cell)的神经元由电偶联，神经递质多巴胺通过这些细胞内的第二信使 cAMP 的作用，使这种偶联的强度明显降低，并继而导致单个水平细胞对视野的反应区域缩小。神经递质对突触网络的这种调节作用很可能对网络处理传入信息的方式起重要作用。

小结

在以前章节我们讨论了单个神经元或单一突触连接的成对神经元的特性。但是，复杂的相互作用，包括大量神经元之间的化学突触和电突触联系，对产生多数行为是必不可少的。数学模型以及生物模型系统已提供了对有关神经元组成神经网络以从事特定行为的认识。有些神经元能同时参与不止一个单一的网络，网络的特性可能由神经递质和激素的作用调节。某些情况下，单一指令神经元或神经元指令系统能启动复杂和持久的行为。下一章我们将探讨可能参与学习和记忆现象的神经元的某些特性。

18

学习和记忆

我们在第 17 章已经看到,动物表现出多种多样的行为。例如,**固定作用方式**(fixed-action pattern),行为一旦被诱导,总是以固定和模式化的形式出现。特定的固定行为方式的诱导物可能来源于动物本身,例如,在发育的特定时期出现的化学诱导物质。此外,固定作用方式也可能在特殊的环境条件下产生。据认为,作为这些固定行为的基础的神经回路或多或少是**固定线路**(hard wired),它们由基因所决定,只能作有限的调节。无脊椎动物和低等脊椎动物的许多,但不是全部行为,常常属于这种固定线路类型。然而,我们已经看到,神经递质的调制使单一的固定线路回路产生相当多样性的输出信号。

这种行为方式随着我们在种系发生树中不断进化而改变。虽然在高等脊椎动物,包括人类,有许多行为,特别是节律性行为如呼吸和行进运动,基本保留固定线路方式;但是,更多的**适应性行为**(adaptive behavior) 开始出现。在这一章,我们将讨论对动物的生存非常重要的两个密切相关的行为现象:**学习**(learning)和**记忆**(memory)。我们可以广义地定义**学习是**由**于经验引起的行为改变**,而记忆是**储存和回忆学习过的经验的能力**。

脑如何编码,储存和追溯记忆,千百年来不但吸引着科学家,也吸引着普罗大众。有充足的理由为什么学习和记忆引起这么广泛的兴趣,因为学习和记忆是定义动物或人类个体的基本要素。此外,神经系统的复杂性使了解如此高级的功能成为富于挑战性和令人兴奋的显示智力的目标。因此,不同领域的许多科学家将毕生的事业贡献给了学习和记忆的研究,包括**记忆印迹**(engram),脑内的物理性记忆痕迹的探索;而过去几十年来技术和概念上的进步对学习和记忆的研究已产生了实质性和令人振奋的进步。由神经精神病学家定义和描述的对各种学习和记忆的深入治疗不在本书的讨论范围。我们将重点讨论几种简单的行为现象,这些行为现象的机制正开始被细胞和分子生物学技术所阐明。

学习和记忆的分类

在进一步论述前,我们必须定义由神经系统展示的行为改变的几种不同分类。历史上,把学习和记忆分为两类是有作用的:**非联合型学习**(nonassociative learning)和**联合型学习**(associative learning),以及**短期记忆**(short-term memory)和**长期记忆**(long-term memory)(图 18-1)。

非联合型学习:习惯化和敏感化　　习惯化和敏感化是两种简单的学习形式,涉及对刺激物的反应强度的改变。习惯化可被简单定义为,由于同一刺激物的重复出现引起行为反应的**减弱** (decrement)。这是发生在无脊椎动物和所有的脊椎动物(包括人类)的一

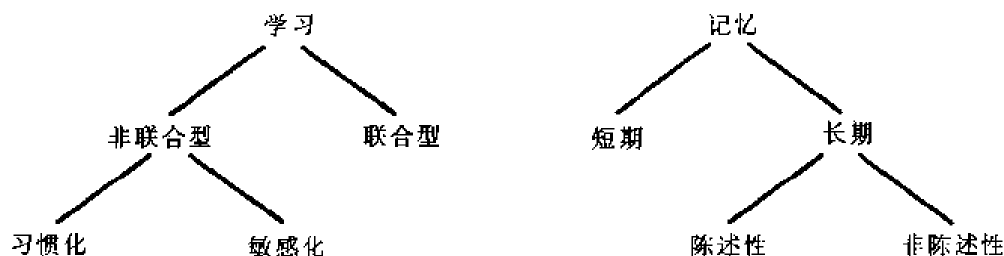


图 18-1 学习和记忆的分类。

种学习形式。例如，一个勤奋的细胞和分子神经生物学学生在学习时受到某些噪音干扰，比如隔壁收音机在播放。虽然开始时，由于刺激物——噪音干扰不能集中精神，但是，经过多次重复以后，神经系统对噪音丧失了反应，该学生对离子通道问题的思考又重新开始。

敏感化在功能上和习惯化相反，可定义为由于一种强烈或有害的刺激引起的反射性反应**增强**（enhancement）。另一方面的不同是，敏感化的刺激不同于引起反射的刺激。而且，没有特异性，而是神经系统普遍唤醒，所有的反射通路增强。把我们的例子类推，如果那个勤奋的学生被响亮的电话铃声吓了一跳以后，他或她受收音机干扰可能比刚打开收音机时更严重。敏感化对动物在适应方面有重要的价值，新的刺激使动物保持警惕以提防可能的捕食者和环境中其他潜在的有害刺激。

联合型学习　联合型学习比习惯化或敏感化更复杂，在于当学习发生时，两个刺激在出现的时间上必须密切相关。当通常是无效或中性的**条件刺激**(conditioned stimulus)和有意义的**非条件刺激**(unconditioned stimulus)在时间上同时出现时，动物就会对条件刺激作出和非条件刺激一样的反应。这种**经典的条件反射**(classical conditioning)的最经典的例子是**巴甫洛夫**(Pavlov) 条件反射实验所用的狗，它学会了把铃声(条件刺激)和进食(非条件刺激)联系起来，仅仅听到铃声就会分泌唾液。非条件刺激可被**强化**(reinforcing)，就像前面的例子；或**回避**(aversive)，例如电击，动物会将条件刺激作为警报，试图逃避与它相关的厌恶性刺激。非联合型学习在刺激之间没有任何时间上的联系；与非联合型学习相反，联合型条件刺激使动物感觉到刺激之间存在因果关系。还有另一类具有不同特点的条件反射，称为**操作式条件反射**(operant conditioning)，在这里就不论述了。

短期记忆和长期记忆：不同的机理　关于无脊椎动物和许多脊椎动物(包括人类)的研究的另一个重要概念，是时间上完全不同的两种记忆的形式(图 18-1)。**短期记忆**(short-term memories)是指获取新的信息并保持数秒钟至数分钟的能力。相反，**长期记忆**(long-term memories)能保存信息几小时、几天、几年，甚至终身。联合型学习和非联合型学习均可产生短期记忆和长期记忆。日常生活中有关这种差别的例子如，看到一个新的电话号码并保存为短期记忆(常常通过背诵，例如不断地重复它)至拨完这个号码。拨完号几分钟后，就再也记不起这个号码了。只有当经常使用这个号码(因此而背诵它)，这个号码才会被储存在长期记忆中。

以前曾经发现，特定部位的脑区损伤可影响长期记忆而不影响短期记忆，可能意味着

不同部位的脑区参与了这两种记忆形式的储存和回忆。本章稍后部分将更详尽地讨论这一点。其他实验结果提示,短期记忆和长期记忆的分子机制也是不同的。例如,电惊厥选择性地抑制长期记忆痕迹的建立。此外,如同我们后面将要看到的,抑制蛋白质的合成不会影响新行为的短期记忆的获得和回忆,但确实会抑制长期记忆。

脑内的记忆组织:记忆印迹的探索

为了探索学习和记忆的生物物理和分子机理,有必要确定参与记忆痕迹的细胞。事实上,记忆痕迹难于定位已成为了解学习和记忆的分子机制取得进展的最大障碍。探索记忆痕迹的物理基础可追溯到组织结构的许多层面,第一步是把记忆印迹定位于一个特定的器官。虽然我们现在很肯定这就是脑,但是有证据表明,早期埃及人认为心脏和肝脏是控制人类情感和行为的所在地。这个结论建立在简单的实验基础上:如果摘除动物的心脏和肝脏,动物就会停止活动。一千年后,在**希波克拉底**(Hipocrates)时代,人们发现,心脏和肝脏如此必不可少,仅仅是因为它们保持脑的存活(空谈的沙文主义者可能会反对这种简单化)。19世纪末,Ramón y Cajal以热情和有说服力的语言描述了脑的重要作用:

认识大脑就是认识思想和意愿的物质过程,就是发现生命与永恒的外力不断地斗争的详尽的历史,这一历史概括在和如实地铭刻在反射、本能和联想的保护性神经协调之中。

然而,把记忆痕迹定位于大脑仅仅是开始。我们将会看到,把范围进一步缩窄到特定的脑区和脑区内个别的神经元已证明是更加艰巨的工作,因为我们现在仅仅是有了初步的认识而已。但是,在脊椎和无脊椎动物中,已有几种与细胞相关联的行为模式,我们正在更多地认识这些神经环路的几种基本的学习形式的可能的细胞、生物物理和分子机理。

记忆痕迹在脑内何处　伟大的神经精神病学家Karl Lashley本世纪上半叶花了大约30年试图定位啮齿类动物的记忆印迹。所用的基本方法是训练动物完成特定的任务,然后损伤神经系统,检查动物是否仍然记得如何完成该项工作。结果发现,没有任何单一的脑区对长期记忆是必不可少的;完成任务的能力受损与损伤的**范围**(extent)成比例,但不取决于损伤的**部位**(location)。在一篇刊于1950年题为"**记忆印迹的探索**"(In Search of the Engram)的很有影响的文章中,Lashley把他的毕生探索所得总结为:没有任何单独的记忆痕迹存在,而记忆是弥散地分布于整个大脑中:

这一系列实验得到的很多信息说明:不存在记忆痕迹及其定位。这些实验发现,没有任何结构是直接的真正意义上的记忆痕迹。在回顾记忆痕迹的定位证据时,我有时会觉得,一个必然的结论是:学习应该是不可能的。然而,尽管这些证据不支持学习的存在,但是学习有时确实存在。

我们现在已经很清楚为什么Lashley的努力没有取得成功:他使用的迷宫实验取决于多种感觉信息和认知功能,而这些信息和功能由脑的不同部分分别处理和储存。局部损伤可能使部分信息丧失,但剩余信息仍足以使动物完成任务,尽管不那么熟练。

在思考记忆印迹的问题时,分清楚几种不同的长期记忆很重要(图18-1)。有些分类

来源于对意外或手术的脑损伤所致的遗忘症患者的研究。**非陈述性**(nondeclarative)的认识包括对技巧和过程的记忆——知道**怎样**(how)——例如,游戏的规则。这种认识取决于在不同脑区分别处理和储存的许多种不同的信息。甚至严重的遗忘症患者也能获得非陈述性记忆。相反,**陈述性**(declarative)的认识涉及对具体事实或事件的记忆——知道**那些**(that)——遗忘症患者不能获得这些类型的新的长期记忆。支持这些概念的最有力的证据之一来源于对遗忘症患者的研究,这些患者只能记忆新的事实性信息非常短的时间,而不能储存新的陈述性长期记忆。然而,当教这些患者通过一面镜子认字时,他们以正常的速度学会了完成这些复杂的任务;数月后再测试他们,他们仍然具有这些镜子阅读的技巧。有趣的是,虽然他们不记得特定的词汇本身,或甚至他们曾经受过这类训练这一事实(陈述性),但是,他们保留这一技巧(非陈述性)。当询问他们为什么能够做得这么好,他们可能会回答说:"恰好擅长这类事情"。

现在,解剖学研究——包括尸体解剖和活体影像技术提供的证据表明,许多遗忘症患者的**边缘系统**(limbic system)受损。边缘系统由一组皮质结构组成,包括**杏仁核**(amygdala)、**海马**(hippocampus)和其他解剖学相关结构(图 18-2)。当给人除外的灵长类动物作类似的手术损伤时,可观察到类似的陈述性记忆障碍(而不是非陈述性记忆障碍)。对其他动物的更广泛的研究也提示,海马与特定的学习和记忆功能有关。我们相信,海马不储存长期记忆痕迹本身,而是参与了记忆的获取,以及在别的结构建立持久和可追溯的记忆。而且,海马的作用局限在陈述性认识的获取和储存。

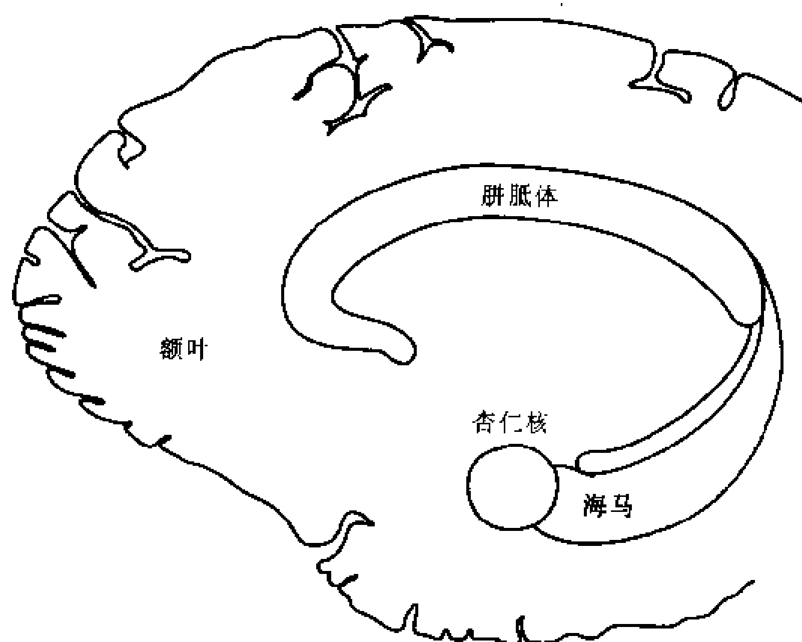


图 18-2 对长期记忆起重要作用的脑结构。引自 Larry Squire 描述人脑内侧面的简图,显示对长期记忆的建立起重要作用的结构。

其他研究已提示,小脑与学习获得的某些行为有关。某项研究已在学会**瞬目反应**(eyehlink response)的兔子身上进行,通过损伤实验,发现受训眼的对侧小脑的一部分对瞬目反应的学习和回忆是必需的。另一种与小脑有关的学习是**前庭动眼反射**(vestibu-

loocular reflex)的适应性变化，这是一种对转头的代偿性的眼运动反应。涉及这一**运动学习**(motor learning)例子的有关的神经元通路已很确定，可探索与学习相关的回路内的细胞变化。

记忆的分子机制

即使我们仍然未能掌握记忆痕迹定位的详细信息，也能够探讨可能涉及学习和记忆的分子机制的一般问题。要回答这一问题，过去有两种很重要的、截然不同的方法：**干扰法**(interference approach)和**相关法**(correlation approach)。近年来，非常有效的**基因法**(genetic approach)也已得到应用。我们将依次讨论这些方法。

干扰法　首先对可能与学习和记忆有关的分子机制作出合理假说，然后使用可干

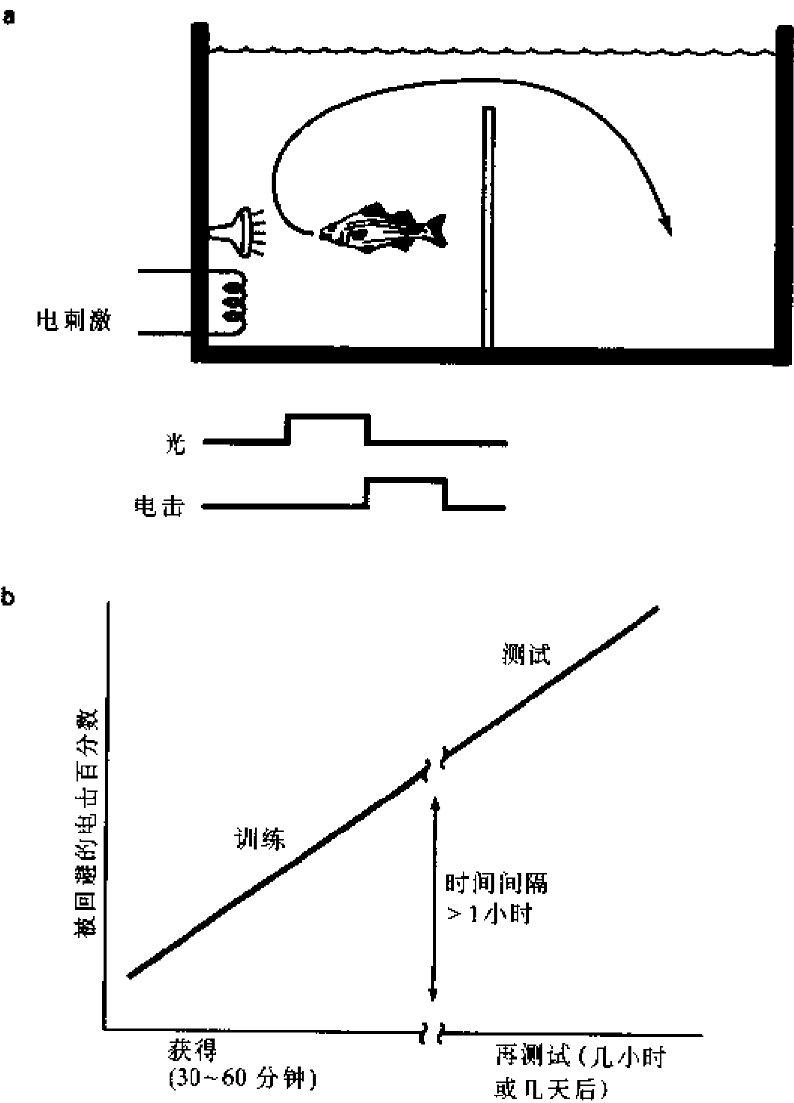


图 18-3　金鱼的条件逃避反应。a：Bernard Agranoff 发现，当灯亮之后总是伴随着电击时，金鱼对灯光将会作出反应，游过一道屏障以躲避电击。b：光/电击联系的获得及长期记忆(见 Agranoff et al.，1965)。

扰(interference)该机制的药物,检查记忆获取和/或回忆是否受到影响。在20世纪50和60年代,一个常见的假说认为蛋白质合成是长期记忆的前提。随着蛋白质合成的理想的特异性抑制物可供应用,研究人员对经过几种不同的训练模式的动物应用了这些抑制物。让我们看一下这种方法的典型例子:金鱼的学习过程。

当电击与灯光同时出现时,经训练,金鱼可避开电击(图18-3a)。在这个**条件回避反应**(conditioned avoidance response)的经典例子中,金鱼学会了把灯光和随后的电击联系起来,每当它们看到灯光,就会游到水槽的另一侧以躲避电击。如图18-3b所示,动物迅速学会这一行为,训练停止后,动物仍然保持这一能力数小时甚至数天。在训练之前、期间或以后的不同时间,把**嘌呤霉素**(puromycin)——一种阻断金鱼脑内90%以上的蛋白质合成的抑制剂——注射入金鱼的脑内。如果对受训过的金鱼在测试前立即进行注射,不会产生任何效果,说明抑制蛋白质合成不改变记忆的**回忆**(recall)或**执行**(performance)(图18-4a)。另一方面,如果受训后立即注射,数小时或数天后测试,记忆被完全抑制(图18-4b)。在受训后第一小时内的不同的时间点注射,受抑制的程度随时间点往后越来越轻。这些结果说明在受训后第一小时或相当时间内的蛋白质的合成是长期记忆痕迹产生的前提。最后,如果注射嘌呤霉素后立即训练动物,动物**获得**(acquisition)这种行为模式的能力是完全正常的,但长期记忆被阻断(图18-4c)。因此,这些实验证明蛋白质合成对长期记忆的建立是必不可少的,但对获得记忆所必需的短期记忆无影响。

虽然在不同的实验条件下的长期记忆和短期记忆的确切的时间长短不尽相同,但是这些基本结论不仅存在于金鱼的研究中,而且在小鼠、大鼠、鸟类和其他动物的研究中结果都是一致的。这些实验确实提供了其中一部分最令人信服的证据,证明短期记忆与长期记忆是具有不同特性的完全不同的过程。此外,应用其他的蛋白质合成抑制剂,包括**茴香霉素**(anisomycin)和**放线菌酮**(cyclobeximide)进行了类似的研究。虽然这些药物除了抑制蛋白质合成以外,几乎肯定产生副作用,但是不同的蛋白质合成抑制剂是否产生不同的副作用,以及把它们对记忆的影响归咎于干扰蛋白质合成这一共同的功能是否最合乎情理,这些问题仍有争论。本章稍后部分我们将会看到,近来越来越多的阻滞法的研究证据证实这一结论,而且开始确定一些关键蛋白质,它们的合成对学习的出现是必不可少的。

相关法 探索学习和记忆过程中的脑的分子变化的辅助方法。这一方法也需要作出相应的分子机制的假设,蛋白质合成就是最常见的假设。当然,我们前面提到的结果也是由此而发现的,而且,许多研究人员测定了动物受训时和受训后不同时期的蛋白质(和RNA)合成的模式。多数情况下这一方法效果不好。我们可能会想象到,学习一个断续的行为只会引起细微的蛋白质合成的变化,因此,很困难,或者根本不可能在脑内正常存在的大量蛋白质合成这一背景下测量到这一细微变化。非常出人意料的是,在该实验中,我们常常观察到动物经过训练后,体内的放射性氨基酸结合为蛋白质的过程会发生明显改变。看来很可能这些变化是与训练有关的一些现象引起的改变,但并不是为记忆痕迹本身的分子基础提供了任何线索。

另一方面,干扰法得出的中心结论,即蛋白质合成是许多种长期记忆建立的基础,仍没有受到严重的挑战。但是,我们还不清楚哪几种蛋白质是必需的,以及它们所起的作用。令人感兴趣的是,这种已有35年历史的方法,作为学习和记忆的分子基础的研究,近

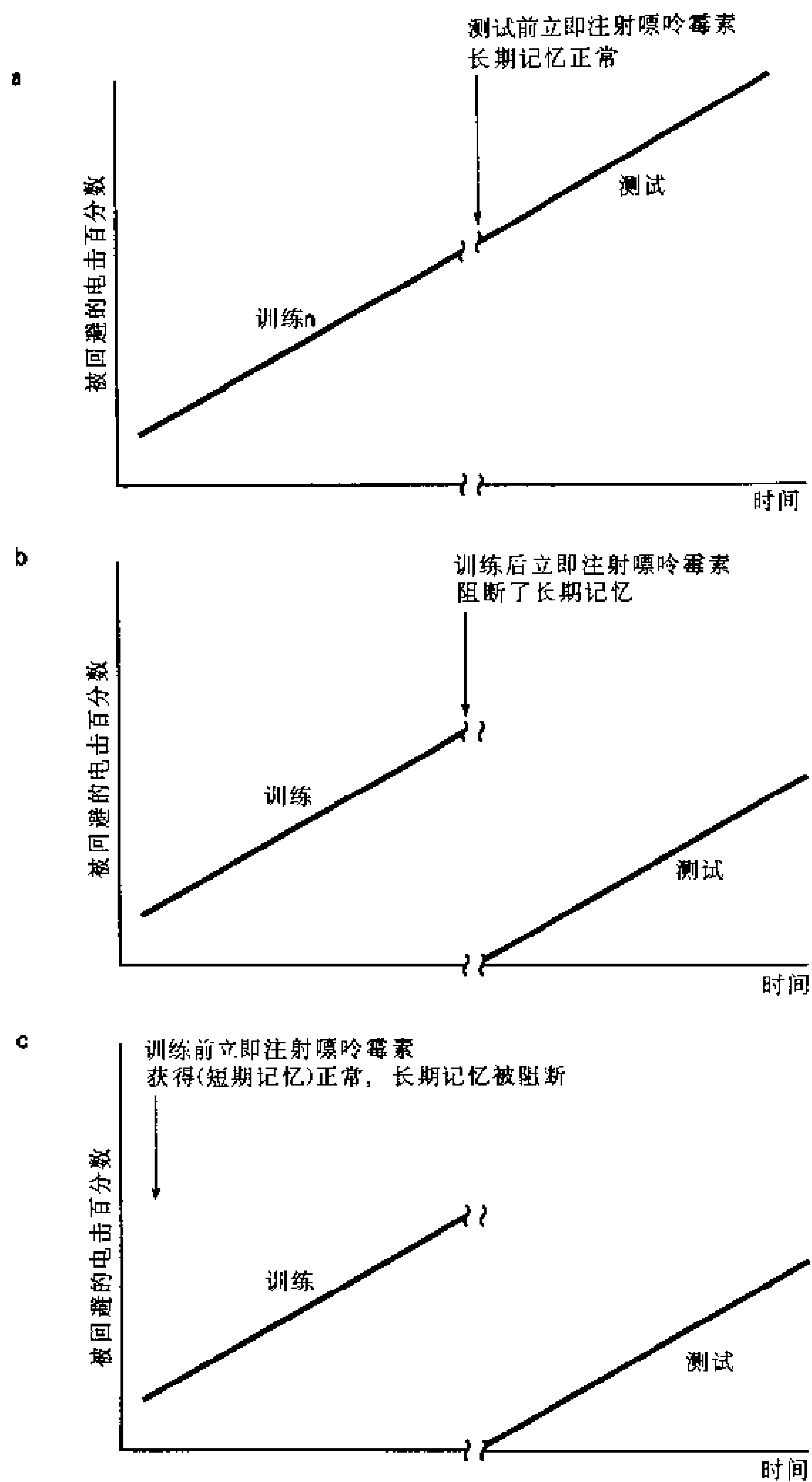


图 18-4 蛋白质合成是长期记忆的前提。a:如果将嘌呤霉素注射到金鱼脑内后立即再测试，金鱼的行为正常(与图 18-3b 比较)。b:相反，训练后立即注射嘌呤霉素，就不会有长期记忆。c:注射嘌呤霉素后立即训练，记忆获得正常但也不会有长期记忆(见 Agranoff et al.，1965)。

年来已焕发出新的生命力。我们在后面将会看到，几种确定与特定行为相关的细胞联系的实验系统，应用了干扰法和相关法，去探索相关的分子机制的细节。要再次强调，蛋白质合成是可能的机制之一，但不是惟一的机制。

基因法　研究行为的基因学的基本原理是简单的和直接的：如果能够造成具有异常行为模式的突变型，检查突变的基因就可能提供导致这种异常行为的分子机理。即使记忆印迹仍然没有定位清楚，这种方法仍然是可行的。记忆的这种基因研究已大量应用于**果蝇**(*Drosophila*)的研究，因为它们的基因比所有别的多细胞生物的基因研究得更加清楚。现在已经证明，**果蝇**能从事联合型和非联合型学习，而且存在各种各样的不同行为模式的突变型。

果蝇能够学习把持定的气味和电击联系起来，从而在随后的实验中避开这种气味。第一种行为突变型是 ***dunce* 突变型**(dunce 的原意为愚笨——译者注)，果蝇经过化学诱变剂处理，然后对其后代进行行为测试筛选，从而分离出该型突变型。*dunce* 突变型具有正常的感觉和运动功能，但它的学习能力受损。当测试它的记忆衰退的时间过程时(图 18-5)，发现它的短期记忆衰退异乎寻常地快，几乎没有长期记忆衰退的迹象。然而，当检测到一些很低程度的残存的长期记忆时，似乎衰退速度与正常果蝇一样。这一结果提示，*dunce* 突变型的基本作用是严重减弱短期记忆，长期记忆的受损可能是继发性的作用。

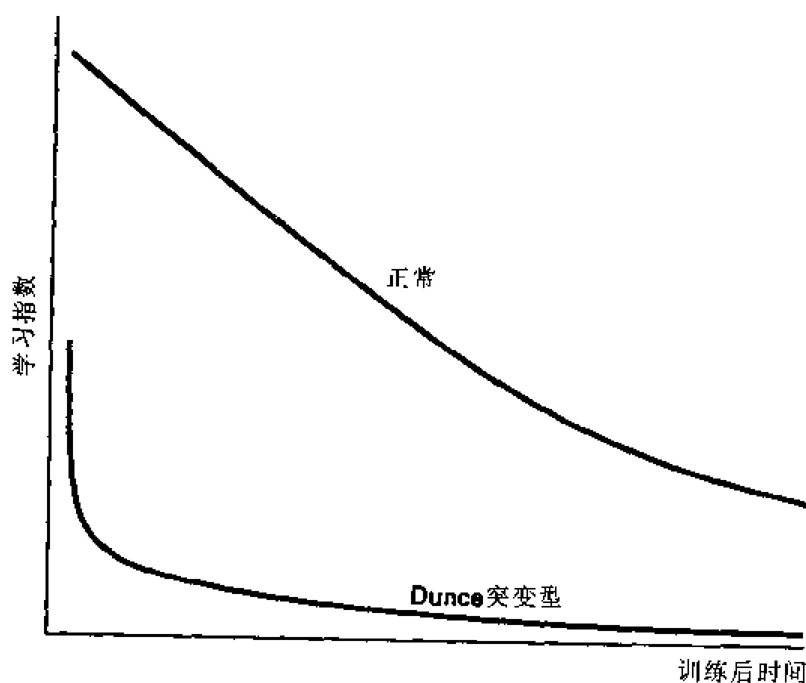


图 18-5　基于气味剂的果蝇电击回避实验。正常果蝇及 dunce 突变型果蝇训练后获得的记忆随时间而衰退的情况。引自 Tully(1987)的画图。

dunce 基因位点编码什么蛋白质呢？它编码的蛋白质是一种 **cAMP 磷酸二酯酶**(cyclic AMP phosphodiesterase)，这种酶是果蝇的 cAMP 水解的主要水解酶。*Dunce* 突变型体内的 cAMP 水平达到正常果蝇的 6 倍，提示 cAMP 可能通过某种方式与记忆的形成有关。这一推测得到另一种记忆突变型——***rutabaga* 突变型**(*rutabaga* 的原意为丑

陋——译者注)的研究结果的支持,这种 *rutabaga* 突变型也存在 cAMP 代谢缺陷。像 *dunce* 突变型一样,在各种联合型条件刺激情况下,*rutabaga* 突变型的短期记忆衰退异乎寻常地快。但是,这种突变型的磷酸二酯酶活性是正常的,反而表现出钙/钙调蛋白依赖型的腺苷酸环化酶的亚酶的缺失,腺苷酸环化酶促进 cAMP 的合成(见第 18 章)。

这些发现勾画出一幅这样的图画:cAMP 对果蝇的学习和记忆扮演了重要的角色(而且,我们将会看到,在别的生物也是如此)。再准确地说,究竟它扮演了什么角色呢?最近的分子基因实验指出,cAMP 对基因表达的调节对学习是很关键的。已知 **cAMP 依赖性蛋白激酶**(cyclic AMP-dependent protein kinase)使到一种名叫 **cAMP 反应单元结合蛋白**(cyclic AMP response element binding protein, CREB, 图 18-6a)的转录因子的特异的丝氨酸残端磷酸化。磷酸化的 CREB 随后与 8 对碱基对的 **cAMP 反应单元**(CRE)结合,CRE 存在于许多基因的调节区,而这些基因的转录由 cAMP 调节(图 18-6a)。只有当 CREB 结合到 CRE 上,这些基因的转录才能被启动,而只有细胞内 cAMP 水平上升引起 CREB 磷酸化,它才能和 CRE 结合。通过基因工程使一种 CREB 功能的阻断剂在果蝇体内表达,就能特异地干扰长期记忆(图 18-6b),提示 CREB 调节的基因表达可能起到某些长期记忆的分子开关作用。这些结果证实和扩展了阻滞法得出的结论,确实,有目的地阻断 CREB 功能可以认为是一种成熟的抑制蛋白质合成的方法——但是,哪些蛋白质的合成

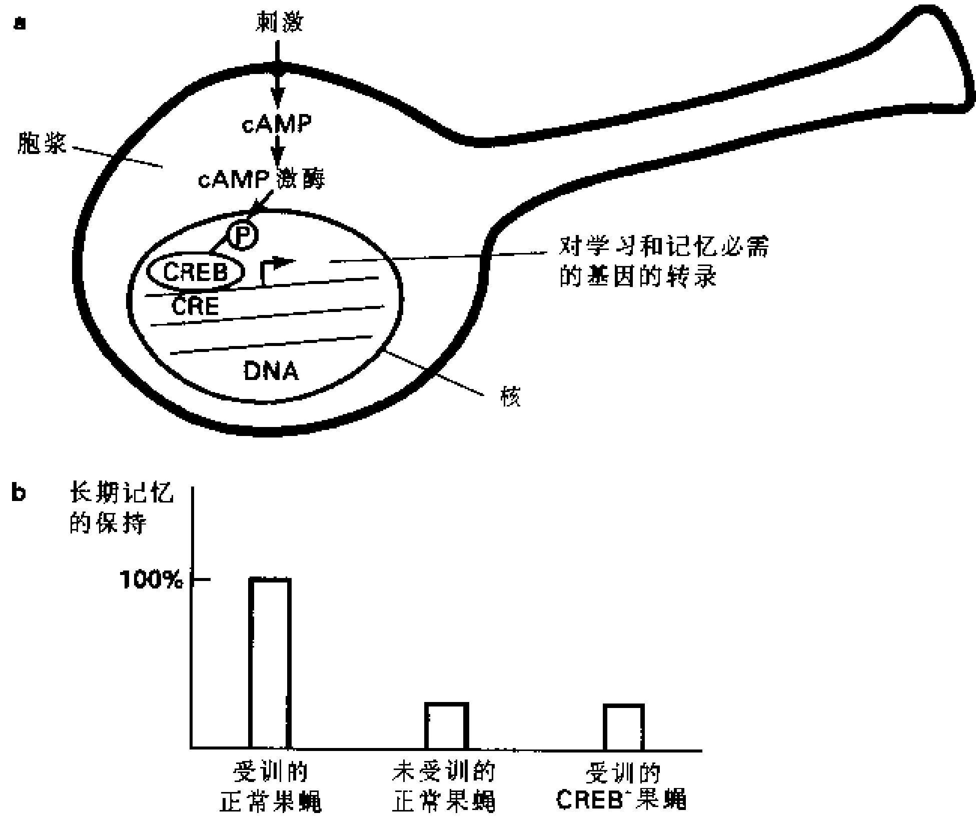


图 18-6 转录调节因子 CREB 参与 cAMP 依赖性学习和记忆。a:刺激产生 cAMP,随后 cAMP 激活 cAMP 依赖性蛋白激酶(cAMP 激酶),CREB 是 cAMP 激酶的底物。磷酸化的 CREB 结合到 CRE,并激活在其调节结构域含有 CRE 序列的基因的转录。这些基因的一些蛋白质产物对学习和记忆是必不可少的。b:通过基因法破坏 CREB 基因的果蝇($CREB^-$ 果蝇)的长期记忆能力受损(Tim Tully 及其同事完成的实验,见 DeZazzo and Tully, 1995)。

对学习和记忆是必需的仍有待确定。

学习和记忆的细胞和分子分析的模型系统

自从 Cajal 和 Sherrington 时代以来，突触在神经元可塑性方面的重要作用，以及突触效能的可塑性变化可能对行为可塑性产生影响已被广泛承认。大约 50 年前已发现，外周神经系统的特定突触在突触效能方面可发生变化，这种变化可持续数秒或数分钟（见第 8 章）。交感神经节和神经肌肉接头的这些变化已经过广泛研究，而且已了解得比较清楚。但是，这些变化对学习和记忆起到什么作用呢？没有人能够肯定神经肌接头或交感节对行为所起的作用。在这一方面，可调节的突触易于研究，但没有行为相关性存在。

因此，很明显，对学习和记忆的机理感兴趣的研究人员正面临着困境。理想的模型系统应该是两个神经元/一个突触，而且具有人类行为的所有组成部分的生物。毫无疑问，这种模型根本不存在。因此，许多研究人员不强求这两个方面都具备，而选择了具有比较复杂的行为可塑性，同时比较易于处理的神经系统。我们下面就比较深入地讨论其中一个模型：腹足软体动物。最后，我们将讨论有关哺乳动物的长期记忆、海马和脑的其他部分的突触强度的长期变化的越来越多的常见模型。

模型系统 I：腹足软体动物海兔（*Aplysia*）

在本书的不同部分已强调了软体动物神经系统在细胞神经生物学方面的有利条件。腹足软体动物不仅提供了易于了解的神经系统，该神经系统由数量较少的已知的大神经元组成，而且表现了超乎寻常的行为的多样性，包括非联合型和联合型学习。在第 17 章，我们已经看到了特定神经元的突触联系的模式如何说明各种行为的控制。现在，我们将要讨论海蜗牛、海兔的短期记忆和长期记忆的细胞和分子生物学的分析（图 18-7）。

海兔的防御性退缩反射　　海兔能够退缩躲开强烈的触觉刺激，是类似于脊椎动物的逃避和退缩反射。尾巴退缩反射是尾巴肌肉对动物的尾侧部皮肤的刺激的收缩反应。鳃和吸水管退缩反射是由触摸吸水管或套膜板（这些是套膜腔的外部器官，而套膜腔是包含和保护鳃的呼吸腔，见图 18-7）引发。人类的类似反射是手臂和手从热火炉的快速退缩。海兔的两种退缩反射都可由经验改进，在行为改变的细胞和分子机制方面，它们似乎很相似。我们在此着重讨论鳃和吸水管退缩反射。

完成鳃和吸水管退缩反射的基本的神经回路已基本确定（图 18-8）。大约 50 个感觉神经元（SN）的感受区位于吸水管和套膜板的皮肤。这些感觉神经元与一群运动神经元（MN）发生单突触或多突触联系，其中多突触联系通过中间神经元（IN）。然后运动神经元直接与鳃和吸水管的肌肉组织形成突触，这些肌肉收缩产生反射性退缩。所有这些神经元的胞体位于海兔腹神经节内，但是这些已知的中枢神经元并不能说明问题的全部。周围回路也参与了鳃和吸水管退缩反射，但它参与反射和行为可塑性的程度仍不清楚。

缩鳃反射的非联合型可塑性：习惯化和敏感化　　这一简单行为不但包括了习惯化

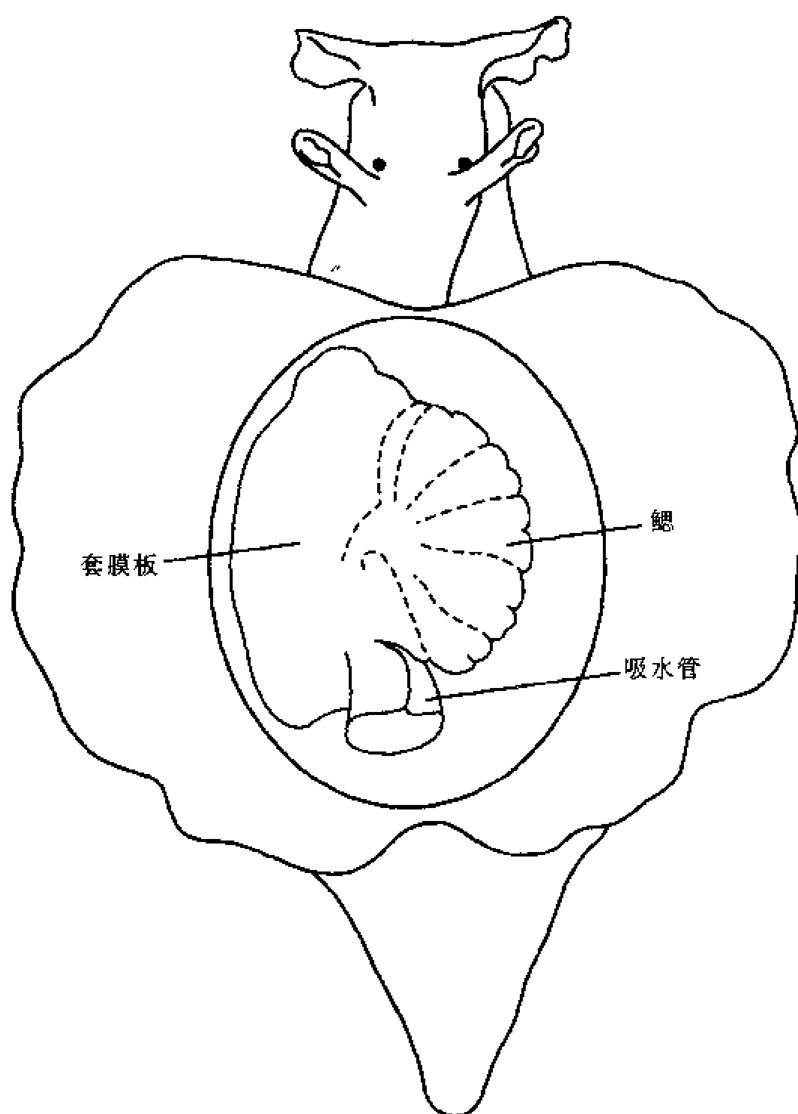


图 18-7 成年加利福尼亚海兔的画图显示鳃、吸水管和套膜板。给予套膜或吸水管区域触觉刺激引起鳃收缩和退缩。引自 Kandel 的画图(1979)。

和敏感化,而且包括了伴随性条件反射。当一个微弱的触觉刺激反复刺激吸水管时,开始时退缩反射很强烈,但随着每一次重复的刺激而不断减弱(图 18-9a),这就是反应的习惯化。下面的反射流程图(图 18-8)显示了几个可能说明行为习惯化的细胞可塑性环节。原则上,细胞的改变可能基于:①感觉神经元对刺激的敏感性;②感觉或运动神经元的应激模式、波峰宽度、或持续时间;或③感觉神经元——运动神经元突触或运动神经元——肌肉突触的效率。通过测试受试动物的反射弧的各个组成部分,Eric Kandel 及其同事发现,伴随着习惯化,从感觉神经元到运动神经元的突触传递信号有递减,而突触信号传递的递减可能解释了习惯化(图 18-9b)。这种**突触抑制**(synaptic depression)是与行为习惯化相关的细胞学改变,看来是通过**同突触**(homosynaptic)的作用,即感觉/运动通路本身的特性,反复刺激突触前感觉神经元即可诱发这种抑制。多突触通路的中间神经元也可能发生改变。事实上,应用光学技术和**电压敏感性染料**(voltage-sensitive dye)同时记录腹神经节的许多神经元的膜电位,发现随着感觉刺激,有多达 300 个神经元的电活动发生变化。

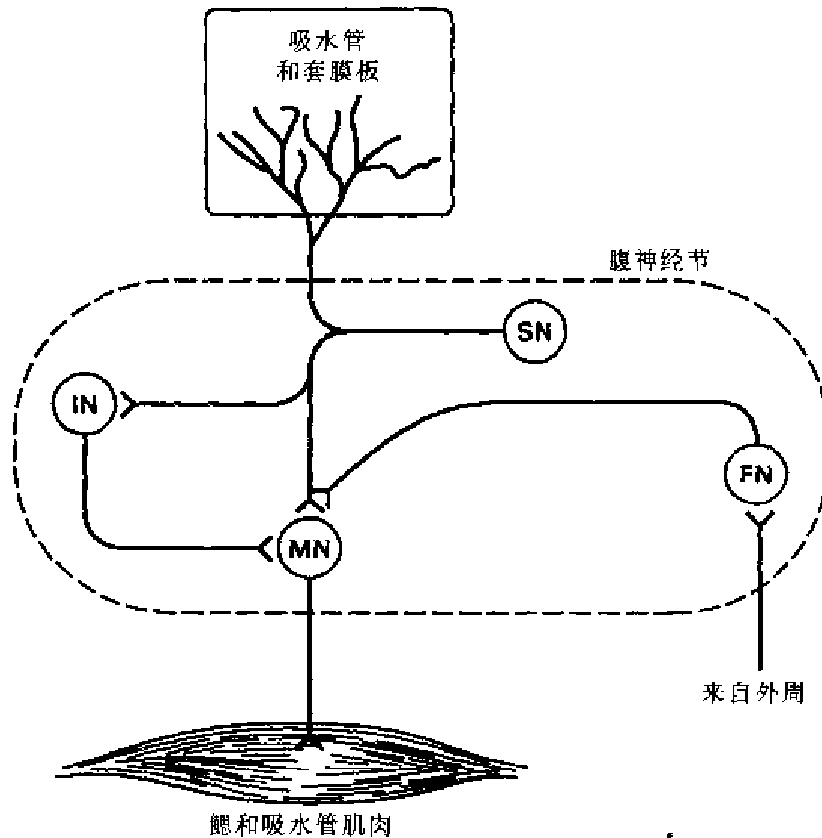


图 18-8 缩鳃反应的线路图。感觉神经元(SN)或者直接或者通过中间神经元(IN)间接与支配鳃和吸水管肌肉的运动神经元(MN)形成突触。易化神经元(FN)接受外周的突触传入并影响 SN 到 MN 的突触。

当给予动物的头或尾强烈的有害刺激，例如电击，鳃和吸水管退缩反射就会明显增强。这种取决于刺激的条件的反应强度的增加称为敏感化或**去习惯化**(dishabituation)。如图 18-9a 所示，反应明显增强，伴有感觉神经元–运动神经元突触的传递增加(图 18-9b)。与这种反射增强有关的细胞学变化是**突触易化**(synaptic facilitation)，是通过**异突触**(heterosynaptic)的方式起作用。和感觉神经元形成突触的易化神经元(FN)被有害刺激激活引起这种变化(图 18-8)，从而改变了感觉神经元到运动神经元突触的特性。突触的抑制和易化都能在离体的腹神经节观察到，前者通过细胞内电极反复刺激感觉神经元引起，后者通过刺激含有易化神经元轴突的神经干引起(图 18-9b)。以适当的间隔刺激，引起的行为反射和异突触异化的增强可持续 24 小时或更长。换句话说，动物对这种非联合型行为改变具有长期的记忆能力，相伴的突触可塑性也能持续非常长的时间。

缩鳃反射的联合型可塑性：经典条件反射　　鳃和吸水管退缩反射不仅能被非联合型习惯化所增强，而且能被联合型条件反射增强。对鳃的温和触觉刺激(条件刺激)和对尾的强烈电击(非条件刺激)同时出现可产生这种条件反射。在条件反射出现以前，条件刺激诱发微弱的退缩反射，非条件刺激诱发强烈的退缩反射。在两个刺激在时间上同时出现后，条件刺激诱发强烈的退缩反射，这种条件反射能维持数天(图 18-10a)。

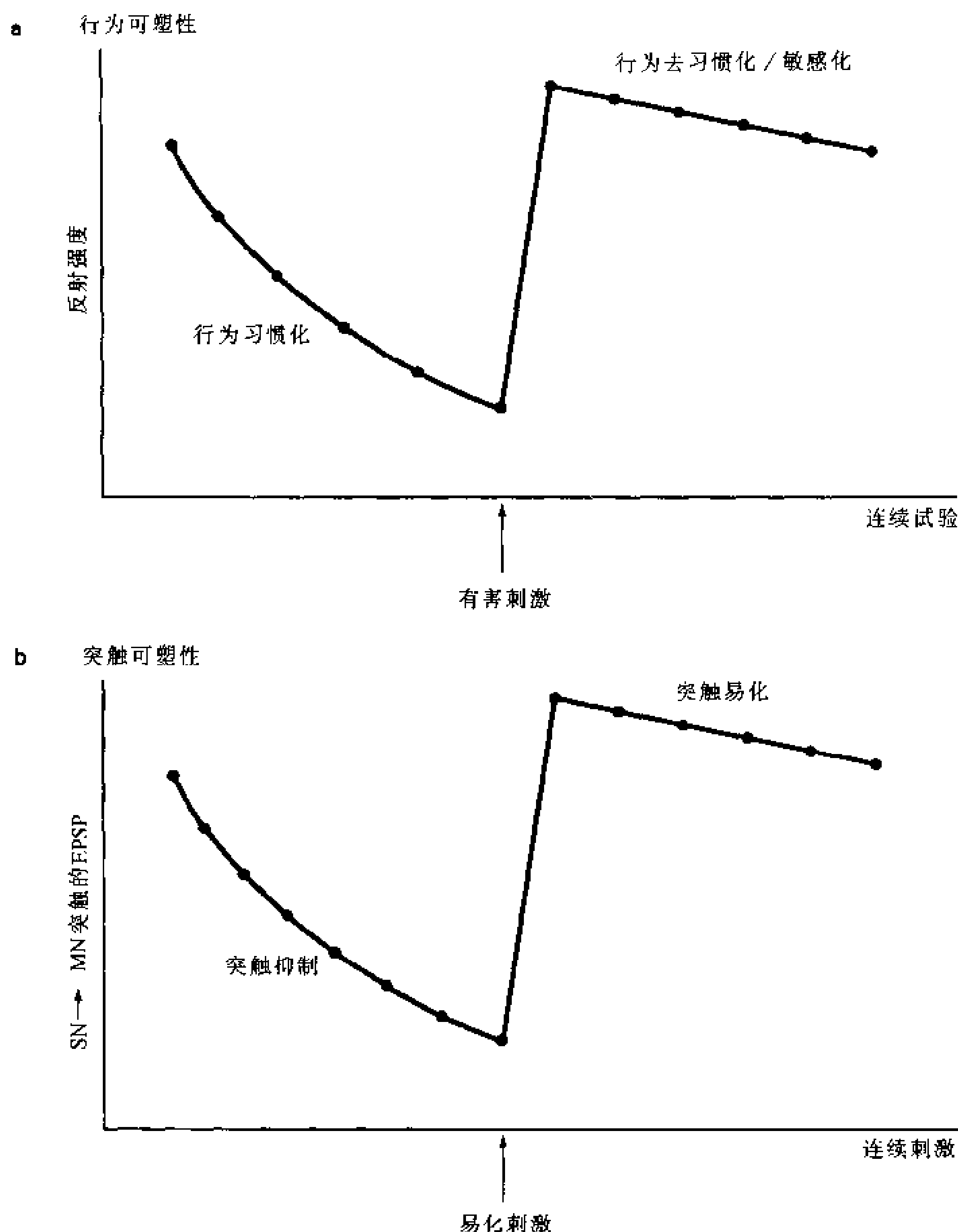
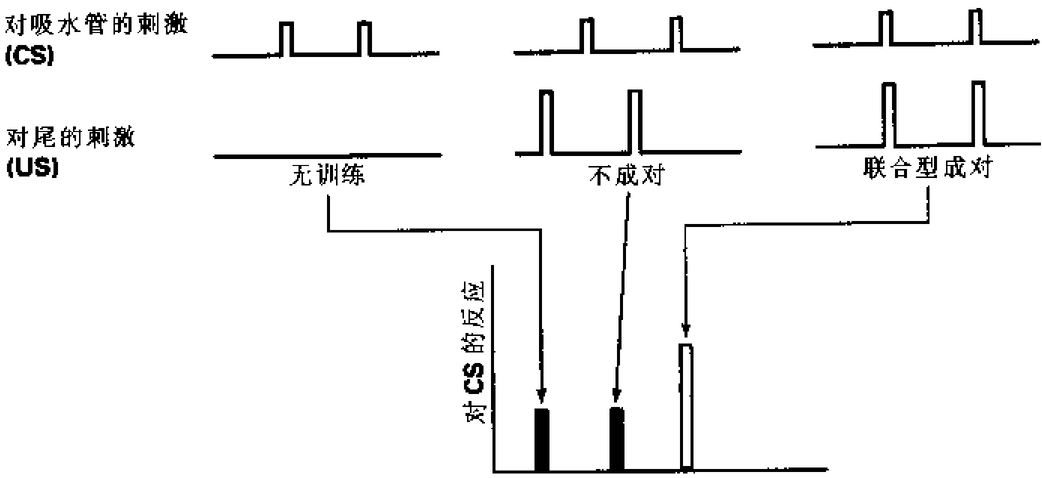


图 18-9 缩鳃反射的调节。a:刺激后测定鳃维持退缩的持续时间可反映反射强度。b:SN 到 MN 的突触效率的改变伴随着行为习惯化和去习惯化/敏感化(见 Kandel and Schwartz, 1982)。

这种联合型行为可塑性的细胞学基础是什么呢?仍然是感觉神经元-运动神经元突触的效能增加了,以及仍然是类似的在离体神经系统可诱发的突触效率的联合型改变(图 18-10b)。当一个感觉神经元的动作电位(SN1——条件刺激)与来自尾部神经的刺激(FN——非条件刺激)在时间上成对出现时,经过数次重复,条件刺激 SN1 可诱发运动神经元的兴奋性突触后电位异常升高。然而,没有和非条件刺激建立成对关系的**其他**感觉神经元对刺激的反应保持不变(图 18-10b 中的 SN2)。在参与尾退缩反射的神经元也能

观察到非常相似的结果。



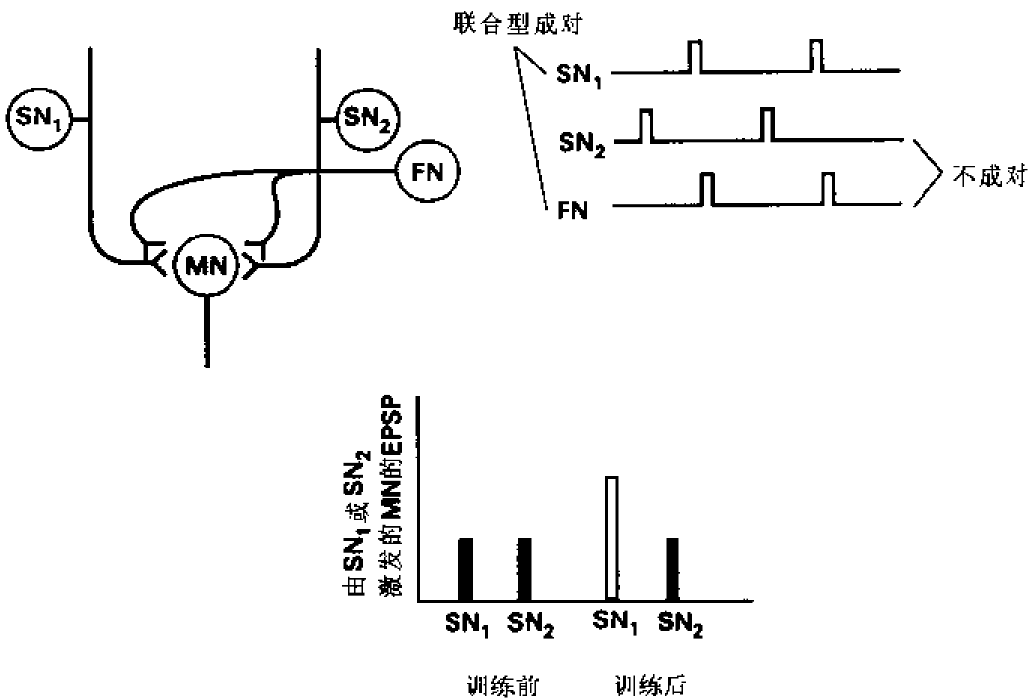


图 18-10 联合型条件反射能增强鳃和吸水管退缩反射。a:当对吸水管的条件刺激(CS)在时间上与一个对尾部的非条件刺激(US)成对出现时,对条件刺激的反应增强。b:突触强度的联合型改变伴随这些行为反应(见 Kandel and Schwartz, 1982)。

突触可塑性的机制:递质释放的调制　突触强度的所有可塑性变化包括了感觉神经元释放的兴奋性神经递质的数量的改变。分别由 Bernard Katz 和 Stephen Kuffler 所进行的对哺乳动物和甲壳动物的神经肌肉接头的早期的经典工作已经指出,递质释放的调制是突触可塑性的重要机理。应用 Katz 首创的量化分析技术(见第 8 章),已证明对鳃退缩反射的短期和长期的行为习惯化起作用的突触抑制伴随着递质释放的**减少**。相反,与

短期和长期敏感化有关的突触易化由递质释放**增加**引起。

易化期的感觉神经元的递质释放增加的部分原因是动作电位持续时间的调制，其机理已在第12章讨论。易化神经元释放的递质增加了感觉神经元的动作电位持续时间，一部分是通过cAMP介导的S钾电流的减少（见图12-11）。然而，其他第二信使系统和其他离子通道也参与感觉神经元递质释放的调制。

长时程易化需要蛋白质的合成　　感觉神经元-运动神经元突触的短时程（持续数分钟）和长时程（持续数小时或数天）易化存在共同的细胞学机制——两者都包括感觉神经元的神经递质释放的增加。因此，可以推断它们的分子生物学机理应该很相似。但是，应用前面提到的阻滞法却发现存在很大的不同——应用易化递质引起的突触传递的长时易化，可被RNA和蛋白质合成抑制剂阻断，而短期易化则不受影响。

有几种实验提示CREB在长时程易化中可能起作用。其中之一是注射过量的含有CRE的相应序列的寡核苷酸到感觉神经元的核内，这种处理可阻断长时程易化，据推测是过量游离CRE结合了所有的磷酸化的CREB，从而阻碍了突触可塑性必需的基因的转录。另一补充实验注射一种**记录基因**（reporter gene）到感觉神经元内，这种记录基因的转录受基因调控区的CRE序列的控制，而且，它编码一种可催化呈色反应的酶。当在产生突触长时程易化的条件下用5-羟色胺处理被注射的神经元时，细胞生成了有色反应产物。这一结果表明，5-HT可激活受CRE调控的记录基因，以及大概还有别的基因的转录。因此，5-羟色胺引起的cAMP的最初的升高对短时程和长时程易化均起作用，然而是通过不同的分子通路（图18-11）。这一发现与前面提到过的果蝇的结果相符，也与许多早期的关于蛋白质合成可能对长期记忆起作用，而对短期记忆不起作用的对脊椎动物的研究结果相符。

模型系统II：长时程增强和长时程抑制

能不能在脊椎动物身上进行这些细胞和分子层面的研究分析呢？我们要重申以前已经强调过的一点：脊椎动物中枢神经系统的复杂性和神经元难于定性，使选定合适的神经元用于研究面临巨大的障碍。少数几个确实可行的实验系统是基本记忆痕迹环路的确定。因此，人们一直在寻找可用于研究由经验诱发的突触效率长期变化的脊椎动物的脑的模型系统。**长时程增强**（long-term potentiation, LPT）是可用于这种研究的一种现象，它出现于几种不同的中枢和周围神经突触，但研究得最多的是在海马。虽然还不清楚海马LTP是否与任何已知的行为改变有关，但是已知海马是对学习和记忆功能非常重要的脑区，而海马LTP是发生于该区的一种突触强度的长期增强。此外，它有联合型成分，因而提供了可能参与长期联合型学习的突触调制的类型的模型。最近，对相关的现象——**长时程抑制**（long-term depression, LTD）也已开始进行深入的研究。

什么是LTP呢？　　值得顺便一提的是，虽然咋一看，脊椎动物脑的突触结构看来可能令人绝望的复杂，但是，特定的结构，包括小脑和海马，实际上排列非常整齐。人们不可能像在腹足软体动物身上那样确定每一个单一的细胞。尽管如此，事实上还是能可靠

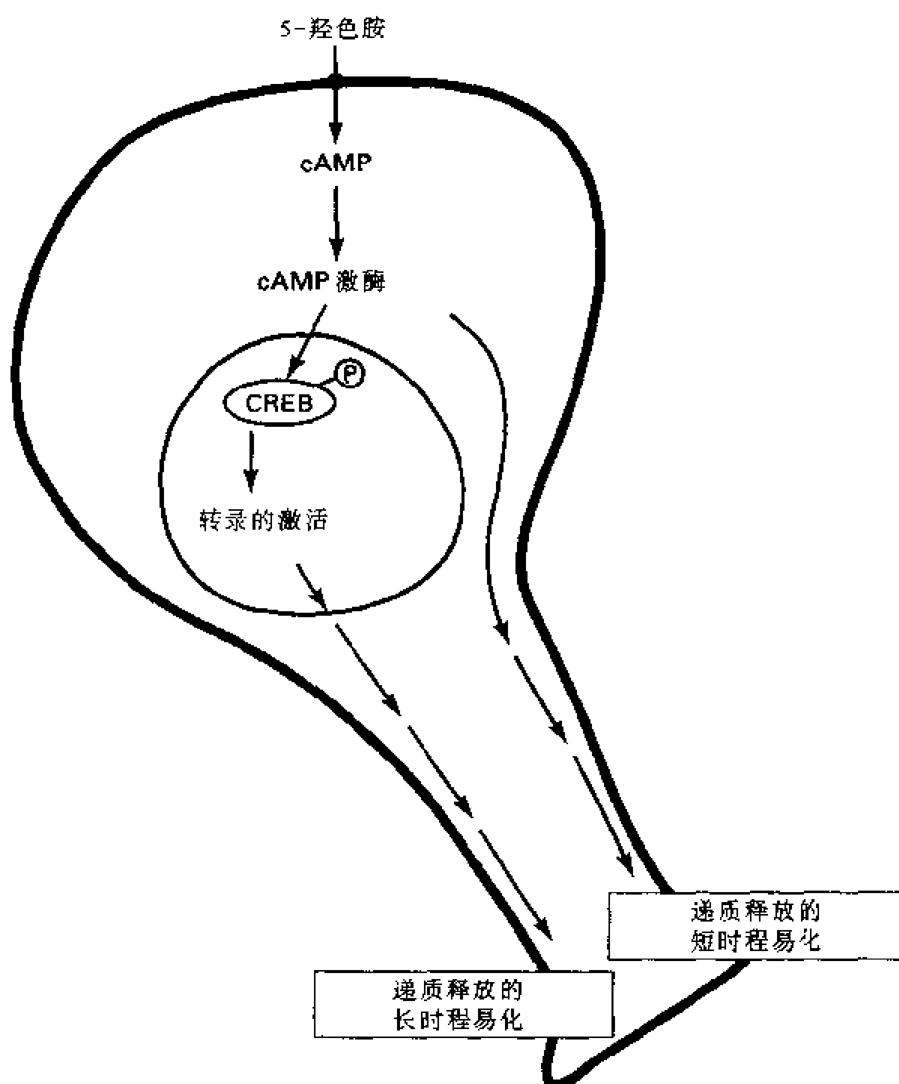


图 18-11　cAMP 对短时程(黑)和长时程(红)突触易化均很重要。(改自 Stevens and Verma, 1994)。

地确定特定类型的细胞群及它们之间的突触。如图 18-12a 所示,对其 LTP 进行了研究的海马的三种主要突触。1973 年发现,兔的这些突触联系之一,**穿通纤维**(perforant fiber)(突触前)和**颗粒细胞**(granule cell)(突触后)之间的突触,经短暂的强直性刺激于突触前轴突,可明显增加突触强度(图 18-12b)。这种增强可持续**数周**,随后在另外两种突触上也得到验证。

近年来,由于体外海马脑片技术的发展,对 LTP 的研究更简单易行,因此应用也更为普遍。脑片是经海马的横切片,如图 18-12a 所示的通路和突触结构保存完整。LTP 也可以在脑片上引出,虽然脑片无法存活几周,而只能存活几个小时,但在脑片的存活期内,LTP 都存在。在脑片上,细胞内记录相对容易(甚至可记录电压钳),因此,不仅能用细胞外电极记录突触后神经元核团的 LTP,而且能记录单个突触后神经元的 LTP。这一技术以及别的技术进步,使探索 LTP 在时间上截然不同的组成部分如**启动**、**储存**和**表达**等成为可能。

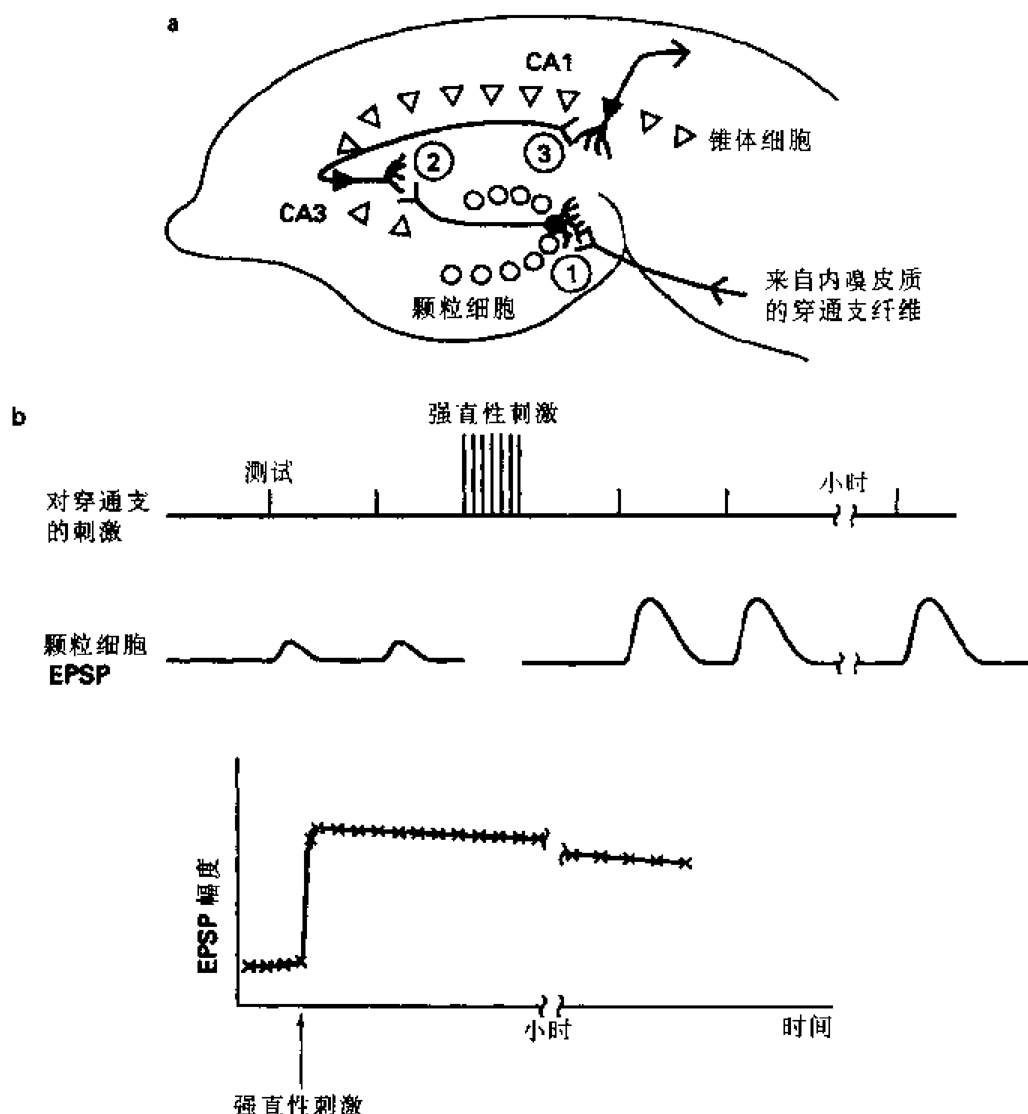


图 18-12 海马的长时程增强(LTP)。a:海马脑片示意图。来自**内嗅皮质**(entorhinal cortex)的纤维通过**穿通通路**(perforant path)进入海马并与颗粒细胞的树突形成突触(1)。颗粒细胞轴突随后和海马 CA3 区域的锥体细胞形成突触(2),CA3 锥体细胞与 CA1 区域的其他锥体细胞形成突触(3)。b:穿通通路到颗粒细胞的突触的 LTP。EPSP:兴奋性突触后电位。(改自 Nicoll et al.,1988;并参见 Bliss and Lomo,1973)。

LTP 的启动 最早期的实验表明,诱导 LTP 产生需要对突触前纤维的刺激强度达到一定阈值的高频刺激。高频和高强度刺激两者都是基本前提(高强度刺激激活大量的突触前纤维)。较弱的刺激不能诱导 LTP,即使是跟在强直性刺激之后,同样地,频率太低的高强度刺激也不能诱导 LTP(图 18-13a)。现在已经清楚,诱导 LTP 的产生需要使大量突触后细胞去极化,因此需要高频和高强度刺激。例如,用电压钳制突触后细胞抑制其去极化,可防止强烈的强直性刺激诱发 LTP(图 18-13b)。但是,虽然突触后去极化是必需的,但是仅有突触后去极化并不能诱导 LTP。例如,只有同时存在弱的突触传入时,突触后神经元内的细胞内电极产生的去极化电流才能诱发 LTP。因此,同时具备突触传

入的刺激和突触后去极化是诱导 LTP 的必要前提。

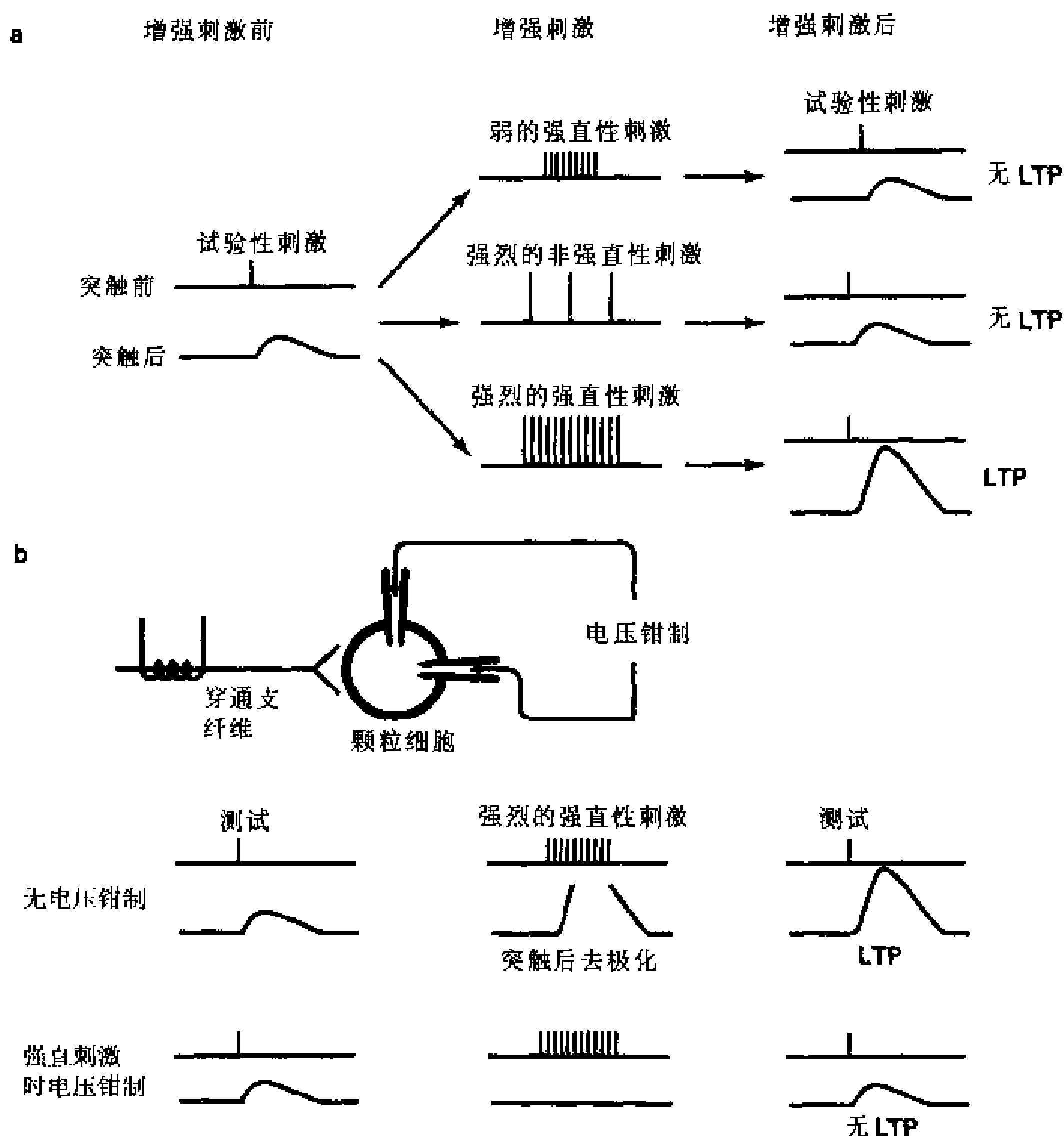


图 18-13 长时程增强需要突触前递质释放与突触后去极化一起出现。a：弱的强直刺激或强的非强直刺激均不能产生 LTP，只有强的强直刺激后才能观察到 EPSP 幅度的增加。b：强直刺激时，钳制突触后细胞电压以压制去极化，即使强烈的强直性刺激也不能产生 LTP。见 Nicoll 等(1988)。

如果我们考虑到经历 LTP 的兴奋性突触的神经递质，就能理解突触活化偶合去极化对 LTP 的必要性。有充分的证据证明谷氨酸是这些兴奋性突触的递质，而且当我们回忆起谷氨酸是哺乳动物脑的主要兴奋性神经递质时(见第 9 章)，这就毫不奇怪了。再回忆一下第 10 章，谷氨酸与几种不同的突触后受体结合，以及被微弱刺激诱发的兴奋性突触后电位通常是由谷氨酸结合到 KA/AMPA 类受体介导的(见图 10-14)。这些说明了为什么去极化和突触活化两者是必须的，任何一个都不能单独激活 NMDA 受体的离子通道，而通过这些通道的钙内流是 LTP 启动的前提。虽然已经充分证明钙内流的必要性，但是产生 LTP 的其他特性，例如代谢型谷氨酸受体的可能作用，还不完全清楚。

联合型 LTP:Hebb 假说　止如我们在第 16 章有关发育期的突触稳定性的内容所述,Donald Hebb 提出,突触前和突触后神经元的同时作用可能增加突触强度。他进一步假设这可能涉及联合型学习的机理。近年来,这一假设被越来越多的人所接受,特别是在有关 LTP 的论述。从以上的讨论我们可以看出,同体突触的 LTP 符合 Hebb 假说的条件,同步出现的突触前活动(引起谷氨酸释放)和突触后活动(以膜去极化的形式)是突触强度长期变化所必需的。也存在联合型形式的 LTP,即一个突触的 LTP 活性可 对另一突触 LTP 的产生起作用。请思考一下图 18-14a 所示:一个弱突触传入和一个强突触传人作用于同一个靶神经元。从图 18-13a 可知,弱传人的刺激,即使是强直性刺激,不产生 LTP;而强传人的强直性刺激产生同体突触的 LTP(图 18-14b)。现在假设同时出现两个强直性传入,强传人能使突触后神经元去极化,这种去极化可扩散到弱传入的部位。既然后者是处于活动期以及在去极化的同时释放谷氨酸,产生 LTP 的两个必备标准都具备,弱传入处就会产生 LTP(当然强传入处也产生 LTP——图 18-14c)。两个刺激同时配对出现这一产生 LTP 的必要条件和产生联合型学习的必要条件相同。

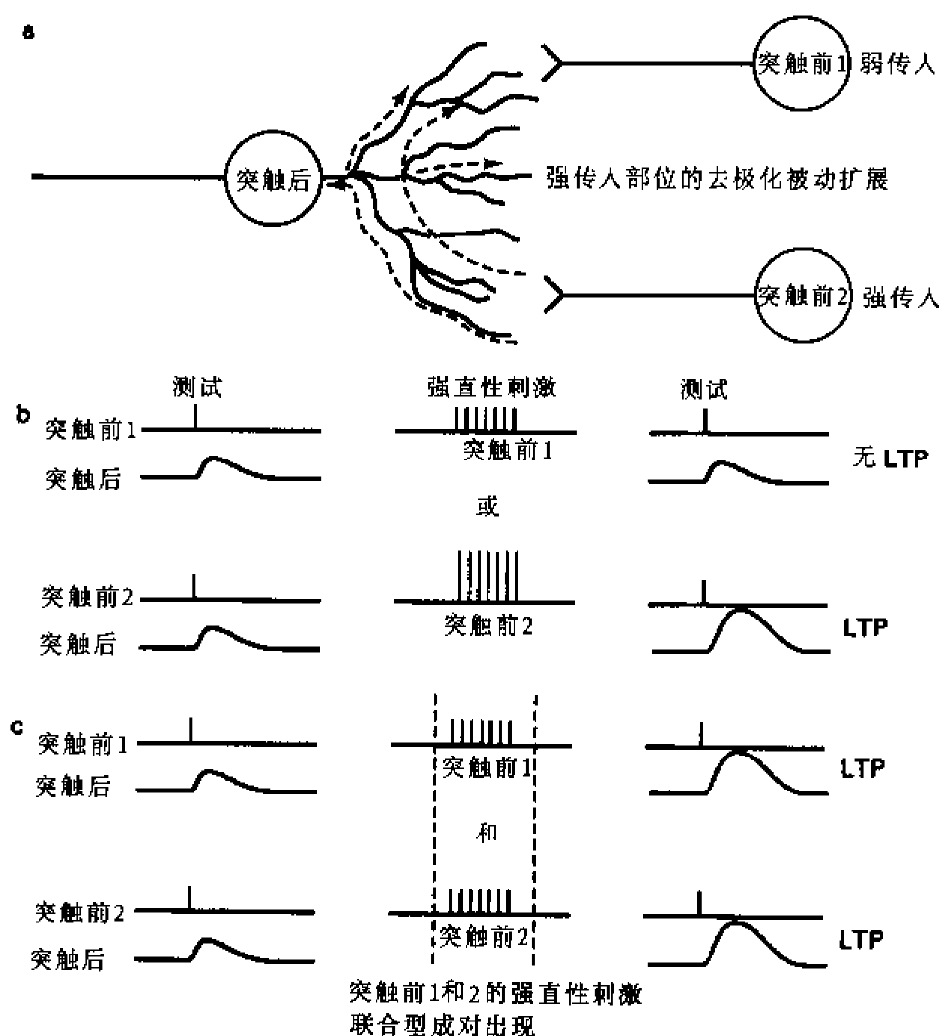


图 18-14　联合型长时程增强。a:图示强和弱突触前传入之间的立体关系。b:强传入刺激产生 LTP,但弱传入刺激不能单独产生 LTP。c:当强和弱传人成对出现时,强传入引起的去极化扩展到弱传入的部位,从而弱传入也引起 LTP(见 Nicoll et al.,1988)。

诱发 LTP 的分子机制：钙起什么作用　　由于钙对细胞有很多方面的作用，仅仅知道突触后神经元的钙内流是产生 LTP 所必需的并不能使我们对它的分子机制有充分的了解(见图 11-17)。蛋白激酶 C 易位和激活伴随 LTP 的出现，抑制物实验提示蛋白激酶 C 可能是必要的，但结果尚未肯定。令人感兴趣的是，有报道蛋白激酶 C 介导的 GAP-43 蛋白的磷酸化(见第 15 章)伴随 LTP 的出现，提示出现于神经突起生长的可塑性中的变化也出现于突触可塑性中。也有假设结构性改变在 LTP 中起作用。已有报道发现，在 LTP 出现后几分钟发生了超微结构改变，表现在树突棘数量增加，以及树突棘突触和树突干突触增多。有趣的是，这些变化也与本章讨论过的其他的学习和记忆模型有关，包括兔瞬目反应和海兔的缩鳃反射的长时程敏感化。

如图 11-17 所示，钙调蛋白是介导细胞内钙的作用的中心环节。使用药理学抑制剂证明，LTP 产生时钙的作用需要钙调蛋白参与。一个备受关注的有关钙调蛋白在 LTP 产生时的作用的假设指出，钙调蛋白激活多功能的钙/钙调蛋白激酶Ⅱ，这一激酶高度集中于突触后树突，因此正是在这一部位调节突触效能。而且，正如第 8 章指出的，在钙存在时，该酶能自动磷酸化，此后，它的活性不依赖钙的存在。因此这一点也提供了突触后

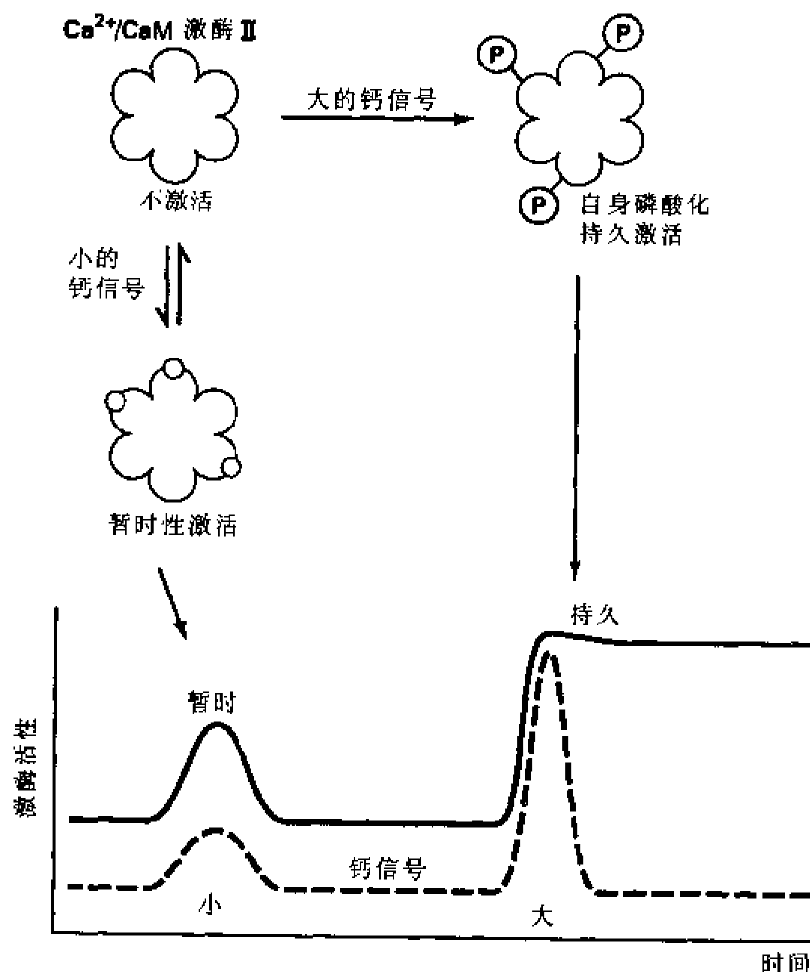


图 18-15　LTP 中钙离子的作用的假说。微小的钙信号能暂时性激活突触后细胞的 Ca^{2+}/Cam 激酶Ⅱ。但是大的钙信号足以刺激激酶的自我磷酸化，可能使激酶持久激活，甚至持续到钙水平下降以后(见 Lisman and Goldring, 1988; Malenka et al., 1989)。

钙的一过性升高能触发突触后细胞性质的长期改变的机理(图 18-15)。

支持钙/钙调蛋白激酶Ⅱ参与诱发 LTP 的证据来源于在第 8 章描述的靶基因敲除实验。基因敲除是研究学习和记忆的阻滞法中复杂的一种,在阻滞法中,阻滞局限于一种特异的蛋白,从而能了解该蛋白的功能。缺失钙/钙调蛋白激酶Ⅱ的 α 同分异构体的突变型小鼠具有极微弱 LTP 或完全缺失 LTP,也学不会完成一定的行为。但是,它们的脑内并不存在任何大体解剖学异常,仍具备短暂的突触可塑性和**强直后增强**(post tetanic potentiation, PTP——见第 8 章)。这些发现说明钙/钙调蛋白激酶Ⅱ的作用对诱发 LTP 是**必不可少**(necessary)的,但是有了它是否就**足够**(sufficient)了呢? 可能不是,因为敲除别的蛋白激酶也能破坏 LTP。

长时程抑制　　突触强度也能长期**减退**(decreased)吗? 长时程抑制(LTD)这一现象,即特定的刺激模式引起的突触强度的长期减退(图 18-16a),已在哺乳动物脑的多个区域被发现,这些区域也包括小脑,在小脑 LTD 可能参与运动学习。海马是研究 LTP 的最好的系统,海马 CA1 区可诱发一种同突触(非联合型)的 LTD(见图 18-12a)。与需要强直性刺激诱发的 LTP 正好相反,同突触 LTD 由低频刺激诱发,通常频率 1～3 赫兹的刺激数百次(请比较图 18-12b 和图 18-16a)。

令人感兴趣的是,许多分子似乎既参与 LTP,又参与 LTD。像 LTP 一样,LTD 在体外脑片的海马内能存在许多个小时,以及用 NMDA 受体拮抗剂阻断通过 NMDA 受体/离子通道的钙内流可防止 LTD 形成。此外,前面讨论过的钙离子/钙调蛋白激酶 II 缺乏的小鼠身上,不能诱发 LTD,说明这种酶在两种形式的突触可塑性上均起到关键作用。同一种诱导信号,即通过 NMDA 受体/离子通道的钙内流,如何既诱导 LTP 又诱导 LTD,以及同一种激酶怎么会对两种作用过程都是必需的呢? 有一个模型(图 18-16b)提示,突触后树突棘聚集的钙的**多少**起关键的作用。根据这一模型,突触的状态——增强或抑制——取决于一些有待确定的突触蛋白质的磷酸化状态。高频刺激引起树突棘内的钙浓度升高、钙离子/钙调蛋白激酶Ⅱ活化、突触蛋白质磷酸化和 LTP。相反,低频刺激引起树突棘内钙浓度降低,从而倾向于激活磷酸蛋白磷酸化酶、突触蛋白质去磷酸化和 LTD(图 18-16b)。与这一模型相一致,磷酸蛋白磷酸化酶抑制剂能阻断海马 CA1 区域的同突触 LTD。虽然尚不清楚哪些激酶/磷酸化酶的底物参与了突触可塑性,但是回忆一下第 12 章:谷氨酸受体亚单位是多种蛋白激酶的良好底物,而且磷酸化可调控谷氨酸受体/离子通道的功能。

LTP 的表达:突触前或突触后　　人们普遍认为,突触后神经元发生的变化**诱发** LTP(和 LTD)。但是什么参与储存和表达呢? 是否存在突触前细胞的谷氨酸神经递质释放的长期改变,或突触后靶组织反应的长期改变,或者二者兼有? 尽管做了大量工作,这一问题仍未解决,在 20 世纪 90 年代后半段仍引起很多争论。定量分析的方法可望对解决这一问题有所帮助,就像在分析神经肌肉接头的突触传递所起的作用一样(见第 8 章)。但是,由于哺乳动物中枢神经系统的复杂性,对定量分析法所得数据的解释常常互相矛盾,对突触前和突触后两种作用模式均有证据支持。在没有一致意见的情况下,让我们绕过这一问题去到另一个问题,即是:突触前机制可能会如何运作呢? 既然 LTP 的产

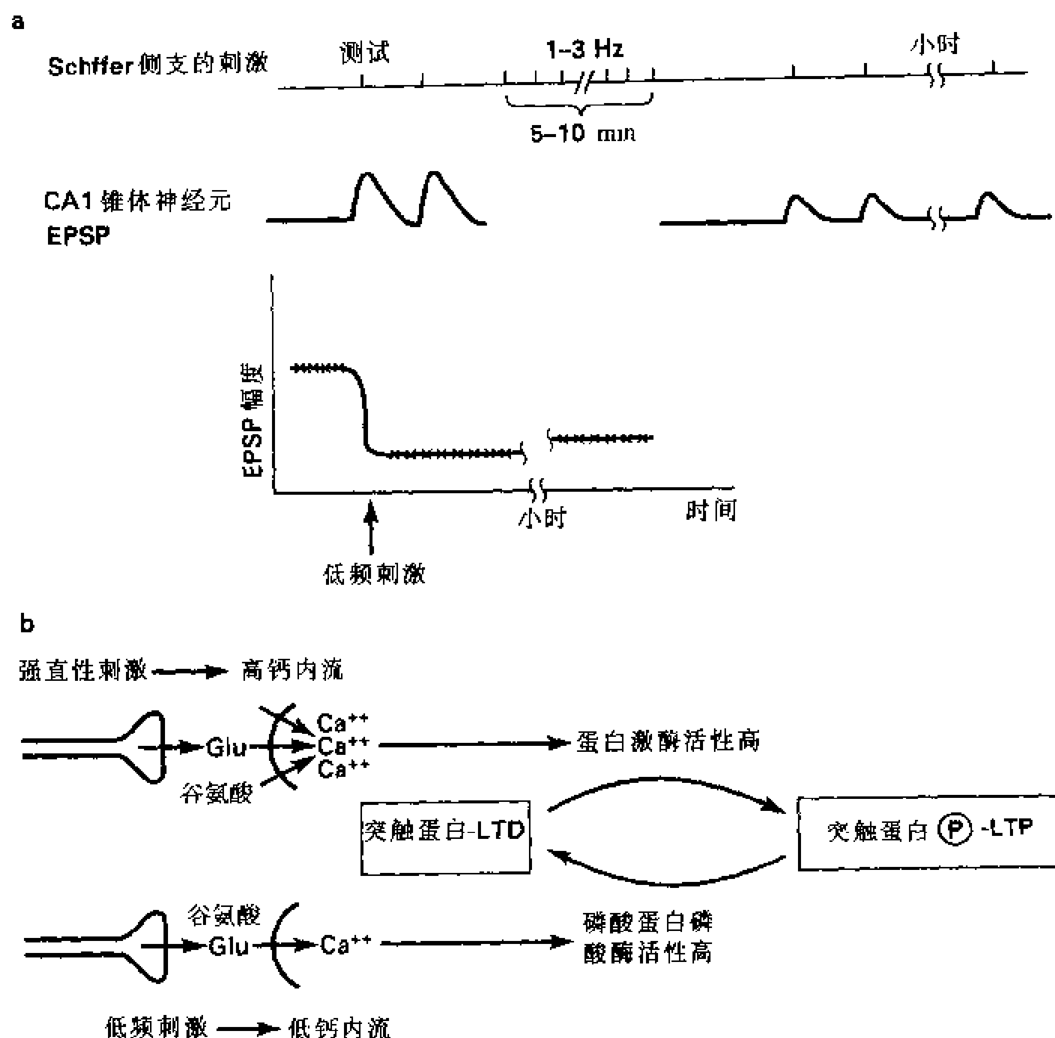


图 18-16 海马的长时程抑制(LTD)。a:来自 CA3 区域到 CA1 区域的 **Schaffer 侧枝通路**(Schaffer collateral pathway)的持续低频率刺激(图 18-12a),在 CA1 锥体神经元产生持久的 NMDA 受体依赖性突触反应的抑制(与图 18-12b 比较)。b:解释在同一个细胞产生 LTP 和 LTD 的模型(改自 Bear and Malenka, 1994)。

生是由突触后的,如果突触前涉及 LTP 的**表达**,必须有从突触后逆行到突触前神经元的某些联络方法。可介导这种联系的**逆行信使**(retrograde messenger)的一个可能候选者是由膜磷脂破裂产生的花生四烯酸。然而,最引起注意的逆行信使候选者是气体一氧化氮(NO,见图 11-11b)。如图 18-17a 所示,有报道一氧化氮合成酶(NOS)的抑制物可阻断 LTP。对这一现象的解释是通过突触后 NMDA 受体的钙内流激活了钙离子/钙调蛋白激酶Ⅱ,这种酶再磷酸化和激活 NOS(图 11-11b)。然后合成的 NO 通过突触间隙逆行扩散到突触前终末,再通过某种方式促进神经递质谷氨酸的释放(图 18-17b)。从这一作用机制流程图可以预期,NO 可能扩散得足够远,以致影响到邻近的突触前终末的递质释放,从而在邻近突触产生 LTP(而不仅仅是直接受到刺激的突触)(图 18-17b),已有报道证实这一点。同一细胞或相邻细胞的邻近突触的这种**扩散性增强**(distributed potentiation)与 LTP 的突触特异性不符,大大影响人们认为的脑如何工作的方式。但是,像有关突触前

与突触后相互作用的议题的许多其他特征一样，NO 作用的报告互相矛盾。不同的实验室报道不同的结果，很显然，必需解决实验方案的微小不同，才能获得脑内突触 LTP 的一致结果。

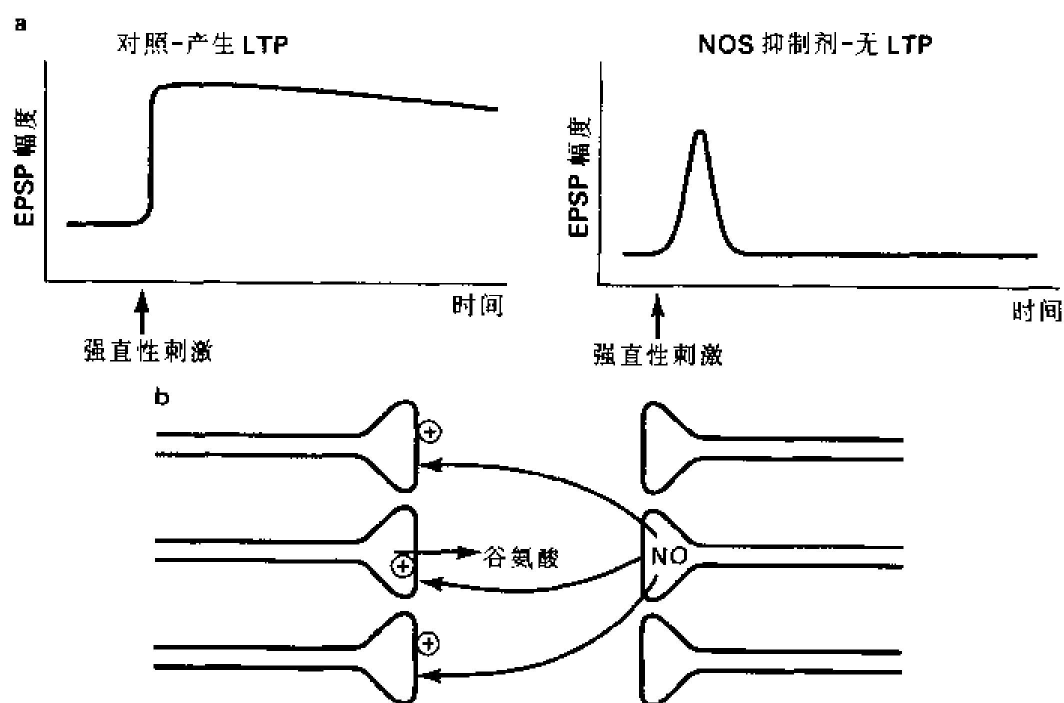


图 18-17 LTP 中的一个逆向信使。a：缺乏 NOS 抑制剂可诱发 LTP(左)，但存在 NOS 抑制剂时不能引发 LTP(右)。b：扩散性逆向信使(例如 NO)可能影响附近其他突触。

小结

不管神经生物学家的实验系统是个别的离子通道，或者行动中的人，他们的目的是了解脑是如何工作的。最使科学家和普通大众着迷的脑功能的一个方面是学习和记忆。精神病学家已描述了不同种类的学习和记忆，并对这些差别的物理基础和相关的细胞和分子机制进行了不懈的探索。由于多数神经系统的复杂性，这些探索很大程度上集中在具有相对简单的神经系统的动物和简化的对象身上。在这些系统，有时能定位参与特定行为的神经元通路，以及确定与学习和记忆相关的突触效能或神经元膜特性的改变。许多方法可应用于获得从事突触强度和膜性质的调制的分子变化的线索。大量问题有待解答。我们可以预期，对学习和记忆的细胞和分子基础的探索将会占去神经生物学家很长的时间。

参考书目

1

推荐读物

M. Barinaga. Dendrites shed their dull image. *Science 268*:200–201 (1995).

A. Peters, S. L. Palay, and H. De F. Webster. *The Fine Structure of the Nervous System: The Neurons and Supporting Cells*. Philadelphia: Saunders (1976).

S. Ramón y Cajal. Croonian Lecture. La fine structure des centres nerveux. *Proc. R. Soc. (London) 55*:444–468 (1894).

C. Sherrington. *The Integrative Action of the Nervous System*. Cambridge: Cambridge University Press (1948).

参考文献

L. K. Kaczmarek, M. Finbow, J-P. Revel, and F. Strumwasser. The morphology and coupling of *Aplysia* bag cells within the abdominal ganglion and in cell culture. *J. Neurobiol. 10*:525–550 (1979).

M. D. Landis. Initial junctions between developing parallel fibers and Purkinje cells are different from mature synaptic junctions. *J. Comp. Neurol. 260*:513–525 (1987).

O. Loewi. Uber humorale Ubertragbarkeit der Herznervenwirkung. *Pflugers Arch. 189*:239–242 (1921).

2

推荐读物

S. T. Brady and A. O. Sperry. Biochemical and functional diversity of microtubule motors in the nervous system. *Curr. Opin. Neurobiol. 5*:551–558 (1995).

S. J. Smith. Neuromodulatory astrocytes. *Curr. Biol.* 4:807–810 (1994).
J. A. Spudich. How molecular motors work. *Nature* 372:515–518 (1994).
J. Travis. Glia: The brain's other cells. *Science* 266:970–972 (1994).

参考文献

J. W. Dani, A. Chernjavsky, and S. J. Smith. Neuronal activity triggers calcium waves in hippocampal astrocyte networks. *Neuron* 8:429–440 (1992).
A. Peters, S. L. Palay, and H. De F. Webster. *The Fine Structure of the Nervous System: The Neurons and Supporting Cells.* Philadelphia: Saunders (1976).
M. P. Sheetz, E. R. Steuer, and T. A. Schroer. The mechanism and regulation of fast axonal transport. *Trends Neurosci.* 12:474–478 (1989).

3

推荐读物

B. Hille. *Ionic Channels of Excitable Membranes,* 2nd ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates (1992).
B. Katz. *Nerve, Muscle and Synapse.* New York: McGraw-Hill (1966).
C. F. Stevens. *Neurophysiology: A Primer.* New York: Wiley (1966).

4

推荐读物

W. A. Catterall. Structure and modulation of sodium and calcium channels. *Annals N.Y. Acad. Sci.* 707:1–19 (1993).
B. Hille. *Ionic Channels of Excitable Membranes,* 2nd ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates, (1992).
C. Miller. How ion channel proteins work. In *Neuromodulation: The Biochemical Control of Neuronal Excitability,* L. K. Kaczmarek and I. B. Levitan (Eds.). New York: Oxford University Press, pp. 39–63 (1987).
B. Sakmann and E. Neher (Eds.). *Single-Channel Recording,* 2nd ed. New York: Plenum (1995).

参考文献

O. P. Hamill, A. Marty, E. Neher, B. Sakmann, and F. J. Sigworth. Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflugers Arch.* 391:85–100 (1981).
M. Noda, S. Shimizu, T. Tanabe, T. Takai, T. Kayano, T. Ikeda, H. Takahashi, H. Nakayama, Y. Kanaoka, N. Minamino, K. Kanagawa, H. Matsuo, M. A. Raftery, T. Hirose, S. Inayama, H. Hayashida, T. Miyata, and S. Numa.

Primary structure of *Electrophorus electricus* sodium channel deduced from cDNA sequence. *Nature 312*:121–127 (1984).

5

推荐读物

B. Hille. *Ionic Channels of Excitable Membranes*, 2nd ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates (1992).

A. L. Hodgkin. Ionic movements and electrical activity in giant nerve fibres. *Proc. R. Soc. London Ser. B. 148*:1–37 (1958).

参考文献

O. P. Hamill, A. Marty, E. Neher, B. Sakmann, and F. J. Sigworth. Improved patch-clamp techniques for high-resolution current recording from cells and cell-free membrane patches. *Pflugers Arch. 391*:85–100 (1981).

A. L. Hodgkin and A. F. Huxley. Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of *Loligo. J. Physiol. (London) 116*:449–472 (1952a).

A. L. Hodgkin and A. F. Huxley. The components of membrane conductance in the giant axon of *Loligo. J. Physiol. (London) 116*:473–496 (1952b).

A. L. Hodgkin and A. F. Huxley. The dual effect of memhrane potential on sodium conductance in the giant axon of *Loligo. J. Physiol. (London)*: *116*:497–506 (1952c).

A. L. Hodgkin and A. F. Huxley. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol. (London) 117*:500–544 (1952d).

A. L. Hodgkin, A. F. Huxley, and B. Katz. Measurements of current–voltage relations in the membrane of the giant axon of *Loligo. J. Physiol. (London) 116*:424–448 (1952).

6

推荐读物

W. A. Catterall. Structure and modulation of sodium and calcium channels. *Annals N.Y. Acad. Sci. 707*:1–19 (1993).

K. Dunlap, J. I. Luebke, and T. J. Turner. Exocytotic calcium channels in mammalian central neurons. *Trends Neurosci. 18*:89–98 (1995).

T. Hoshi and W. N. Zagotta. Recent advances in the understanding of potassium channel function. *Curr. Opin. Neurobiol. 3*:283–290 (1993).

L. L. Isom, K. S. De Jongh, and W. A. Catterall. Auxiliary subunits of voltage-gated ion channels. *Neuron 12*:1183–1194 (1994).

L. Y. Jan and Y. N. Jan. Potassium channels and their revolving gates. *Nature 371:* 119–122 (1994).

参考文献

J. P. Adelman, K.-Z. Shen, M. P. Kavanaugh, R. A. Warren, Y.-N. Wu, A. Lagrutta, C. T. Bond, and R. A. North. Calcium-activated potassium channels expressed from cloned complementary DNAs. *Neuron* 9:209–216 (1992).

C. M. Armstrong. Sodium channels and gating currents. *Physiol. Rev. 61*:644–683 (1981).

W. A. Catterall. Molecular properties of voltage-sensitive sodium channels. *Annu. Rev. Biochem. 55*:953–985 (1986).

K. Dunlap, J. I. Luebke, and T. J. Turner. Exocytotic calcium channels in mammalian central neurons. *Trends Neurosci. 18*:89–98 (1995).

T. Hoshi, W. N. Zagotta, and R. W. Aldrich. Biophysical and molecular mechanisms of *Shaker* potassium channel inactivation. *Science 250*:533–538 (1990).

M. Li, N. Unwin, K. Stauffer, Y. N. Jan, and L. Y. Jan. Images of purified *Shaker* potassium channels. *Curr. Biol.* 4:110–115 (1994).

R. W. Meech and N. B. Standen. Potassium activation in *Helix aspersa* neurons under voltage clamp: A component mediated by calcium influx. *J. Physiol. (London) 249*:211–239 (1975).

R. Ranganathan. Evolutionary origins of ion channels. *PNAS 91*:3484–3486 (1994).

P. H. Reinhart, S. Chung, and I. B. Levitan. A family of calcium-dependent potassium channels from rat brain. *Neuron 2*:1031–1041 (1989).

T. L. Schwarz, B. L. Tempel, D. M. Papazian, Y. N. Jan, and L. Y. Jan. Multiple potassium-channel components are produced by alternative splicing at the *Shaker* locus in *Drosophila*. *Nature (London) 331*:137–142 (1988).

N. Yang and R. Horn. Evidence for voltage-dependent S4 movement in sodium channels. *Neuron 15*:213–218 (1995).

7

推荐读物

J. E. Rothman. Mechanisms of intracellular protein transport. *Nature 372:55*–63 (1994).

T. C. Südhof. The synaptic vesicle cycle: A cascade of protein–protein interactions. *Nature 375*:645–653 (1995).

T. C. Südhof and R. Jahn. Proteins of synaptic vesicles involved in exocytosis and membrane recycling. *Neuron 6*:665–677 (1991).

参考文献

L. J. Breckenridge and W. Almers. Current through the fusion pore that forms during exocytosis of a secretory vesicle. *Nature (London) 328*:814–817 (1987).

J. M. Burt and D. C. Spray. Single channel events and gating behavior of the cardiac gap junction channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85*:3431–3434 (1988).

L. K. Kaczmarck, M. Finbow, J-P. Revel, and F. Strumwasser. The morphology and coupling of *Aplysia* bag cells within the abdominal ganglion and in cell culture. *J. Neurobiol. 10*:525–550 (1979).

K. Kohji, P. S. McPherson, S. L. Schmid, and P. DeCamilli. Tubular membrane invaginations coated by dynamin rings are induced by GTP-γS in nerve terminals. *Nature 374*:186–190 (1995).

L. Makowski, D. L. D. Caspar, W. C. Phillips, and D. A. Goodenough. Gap junction structures. II. Analysis of the X-ray diffraction data. *J. Cell Biol. 74*:629–645 (1977).

8

推荐读物

P. Greengard, F. Valtorta, A. J. Czernik, and F. Benfenati. Synaptic vesicle phosphoproteins and regulation of synaptic function. *Science 259*:780–785 (1993).

R. Llinas. Calcium in synaptic transmission. *Sci. Am. 247*(4):56–65 (1982).

V. O'Connor, G. J. Augustine, and H. Betz. Synaptic vesicle exocytosis: Molecules and models. *Cell 76*:785–787 (1994).

S. J Smith and G. J. Augustine. Calcium ions, active zones and synaptic transmitter release. *Trends Neurosci. 11*:458–464 (1988).

R. S. Zucker. Neurotransmitter release and its modulation. In *Neuromodulation: The Biochemical Control of Neuronal Excitability*, L. K. Kaczmarek and I. B. Levitan (Eds.). New York: Oxford University Press, pp. 243–263 (1987).

参考文献

G. J. Augustine, M. P. Charlton, and S. J. Smith. Calcium entry and transmitter release at voltage-clamped nerve terminals of squid. *J. Physiol. 369*:163–181 (1985).

I. A. Boyd and A. R. Martin. The end-plate potential in mammalian muscle. *J. Physiol. 132*:74–91 (1956).

M. Geppert, V. Y. Bolshakov, S. A. Siegelbaum, K. Takel, P. DeCamilli, R. E. Hammer, and T. C. Südhof. The role of Rab3A in neurotransmitter release. *Nature 369*:493–497 (1994).

G. Grynkiewicz, M. Poemie, and R. Y. Tsien. A new generation of Ca^{2+} indicators with greatly improved fluorescence properties. *J. Biol. Chem. 260*:3440–3450 (1985).

J. E. Heuser, T. S. Reese, M. J. Dennis, Y. Jan, L. Jan, and L. Evans. Synaptic vesicle exocytosis captured by quick freezing and correlated with quantal transmitter release. *J. Cell Biol. 81*:275–300 (1979).

R. Llinas, T. L. McGuinness, C. S. Leonard, M. Sugimori, and P. Greengard. Intraterminal injection of synapsin I or calcium/calmodulin-dependent protein

kinase II alters neurotransmitter release at the squid giant synapse. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82:3035–3039 (1985).

9

推荐读物

S. G. Amara and J. L. Arriza. Neurotransmitter transporters: Three distinct gene families. *Curr. Opin. Neurobiol.* 3:337–344 (1993).

J. R. Cooper, F. E. Bloom, and R. H. Roth. *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*, 7th ed. New York: Oxford University Press (1996).

参考文献

B. Giros, Y.-M. Wang, S. Suter, S. B. McLeskey, C. Pifl, and M. G. Caron. Delineation of discrete domains for substrate, cocaine, and tricyclic antidepressant interactions using chimeric dopamine–norepinephrine transporters. *J. Biol. Chem.* 269:15985–15988 (1994).

S. W. Kuffler. Slow synaptic responses in autonomic ganglia and the pursuit of a peptidergic transmitter. *J. Exp. Biol.* 89:257–286 (1980).

A.-J. Silverman and E. A. Zimmerman. Magnocellular neurosecretory system. *Annu. Rev. Neurosci.* 6:357–380 (1983).

10

推荐读物

J. A. Dani and M. L. Mayer. Structure and function of glutamate and nicotinic acetylcholine receptors. *Curr. Opin. Neurobiol.* 5:310–317 (1995).

T. M. DeLorey and R. W. Olsen. γ-Aminobutyric acid$_A$ receptor structure and function. *J. Biol. Chem.* 267:16747–16750 (1992).

A. Karlin and M. H. Akabas. Toward a structural basis for the function of nicotinic acetylcholine receptors and their cousins. *Neuron* 15:1231–1244 (1995).

G. R. Martin and P. P. A. Humphrey. Receptors for 5-hydroxytryptamine: Current perspectives on classification and nomenclature. *Neuropharmacol.* 33:261–273 (1994).

D. S. McGehee and L. W. Role. Physiological diversity of nicotinic acetylcholine receptors expressed by vertebrate neurons. *Ann. Rev. Physiol.* 57:521–546 (1995).

S. Nakanishi and M. Masu. Molecular diversity and functions of glutamate receptors. *Ann. Rev. Biophys. Biomol. Struc.* 23:319–348 (1994).

G. L. Westbrook. Glutamate receptor update. *Curr. Opin. Neurobiol.* 4:337–346 (1994).

W. Wisden and P. H. Seeburg. GABA$_A$ receptor channels: From subunits to functional entities. *Curr. Opin. Neurobiol.* 2:263–269 (1992).

参考文献

E. A. Barnard, R. Miledi, and K. Sumikawa. Translation of exogenous messenger RNA coding for nicotinic acetylcholine receptors produces functional receptors in *Xenopus* oocytes. Proc. R. Soc. London Ser. B 215:241–246 (1982).

J.-L. Eiselé, S. Bertrand, J.-L. Galzi, A. Devillers-Thiéry, J.-P. Changeux, and D. Bertrand. Chimeric nicotinic–serotonergic receptor combines distinct ligand binding and channel specificities. *Nature 366*:479–483 (1993).

A. V. Maricq, A. S. Peterson, A. J. Brake, R. M. Meyers, and D. Julius. Primary structure and functional expression of the $5HT_3$ receptor, a serotonin-gated ion channel. *Science 254*:432–437 (1991).

M. L. Mayer, G. L. Westbrook, and P. B. Guthrie. Voltage-dependent block by Mg^{2+} of NMDA responses in spinal cord neurones. *Nature 309*:261–263 (1984).

L. Nowak, P. Bregestovski, P. Ascher, A. Herbet, and A. Prochiantz. Magnesium gates glutamate-activated channels in mouse central neurones. *Nature (London) 307*:462–465 (1984).

B. Sakmann, C. Methfessel, M. Mishina, T. Takahashi, T. Takai, M. Kurasaki, K. Fukuda, and S. Numa. Role of acetylcholine receptor subunits in gating of the channel. *Nature (London) 318*:538–543 (1985).

N. Unwin. Nicotinic acetylcholine receptor at 9 Å resolution. *J. Mol. Biol. 229*:1101–1124 (1993).

N. Unwin. Acetylcholine receptor channel imaged in the open state. *Nature 373*:37–43 (1995).

11

推荐读物

M. J. Berridge. Inositol trisphosphate and diacylglycerol: Two interacting second messengers. *Annu. Rev. Biochem. 56*:159–193 (1987).

P. J. Casey. Protein lipidation in cell signalling. *Science 268*:221–225 (1995).

D. E. Clapham. Calcium signaling. *Cell 80*:259–268 (1995).

D. E. Clapham and E. J. Neer. New roles for G-protein βγ dimers in transmembrane signalling. *Nature 365*:403–406 (1993).

T. M. Dawson and S. H. Snyder. Gases as biological messengers: Nitric oxide and carbon monoxide in the brain. *J. Neurosci. 14*:5147–5159 (1994).

C. A. Doupnik, N. Davidson, and H. A. Lester. The inward rectifier potassium channel family. *Curr. Opin. Neurobiol. 5*:268–277 (1995).

B. E. Ehrlich. Functional properties of intracellular calcium release channels. *Curr. Opin. Neurobiol. 5*:304–309 (1995).

S. Nakanishi. Metabotropic glutamate receptors: Synaptic transmission, modulation and plasticity. *Neuron 13*:1031–1037 (1994).

E. J. Neer. Heterotrimeric G proteins: Organizers of transmembrane signals. *Cell 80*:249–257 (1995).

B. F. O'Dowd, R. J. Lefkowitz, and M. G. Caron. Structure of the adrenergic and related receptors. *Annu. Rev. Neurosci. 12*:67–83 (1989).

参考文献

G. E. Breitwieser and G. Szabo. Uncoupling of cardiac muscarinic and β-adrenergic receptors from ion channels by a guanine nucleotide analogue. *Nature (London) 317*:538–540 (1985).

N. Divecha and R. F. Irvine. Phospholipid signaling. *Cell 80*:269–278 (1995)

T. Furuichi, K. Kohda, A. Miyawaki, and K. Mikoshiba. Intracellular channels. *Curr. Opin. Neurobiol. 4*:294–303 (1994).

M. B. Kennedy. Regulation of neuronal function by calcium. *Trends Neurosci. 12*:417–420 (1989).

D. E. Logothetis, Y. Kurachi, J. Galper, E. J. Neer, and D. E. Clapham. The βγ subunits of GTP-binding proteins activate the muscarinic K^+ channel in heart. *Nature (London) 325*:321–326 (1987).

P. J. Pfaffinger, J. M. Martin, D. D. Hunter, N. M. Nathanson, and B. Hille. GTP-binding proteins couple cardiac muscarinic receptors to a K^+ channel. *Nature (London) 317*:536–538 (1985).

12

推荐读物

L. K. Kaczmarek and I. B. Levitan. *Neuromodulation: The Biochemical Control of Neuronal Excitability*. New York: Oxford University Press (1987).

I. B. Levitan. Modulation of ion channels by protein phosphorylation and dephosphorylation. *Annu. Rev. Physiol. 56*:193–212 (1994).

参考文献

S. A. DeRiemer, J. A. Strong, K. A. Albert, P. Greengard, and L. K. Kaczmarek. Enhancement of calcium current in *Aplysia* neurones by phorbol ester and protein kinase C. *Nature (London) 313*:313–316 (1985).

K. Dunlap and G. D. Fischbach. Neurotransmitters decrease the Ca component of sensory neurone action potentials. *Nature (London) 276*:837–838 (1978).

J. F. Hopfield, D. W. Tank, P. Greengard, and R. L. Huganir. Functional modulation of the nicotinic acetylcholine receptor by tyrosine phosphorylation. *Nature (London) 336*:677–680 (1988).

S. W. Jones and P. R. Adams. The M-current and other potassium currents of vertebrate neurons. In *Neuromodulation: The Biochemical Control of Neuronal Excitability*, L. K. Kaczmarek and I. B. Levitan (Eds.). New York: Oxford University Press, pp. 159–186 (1987).

E. R. Kandel. *Cellular Basis of Behavior: An Introduction to Behavioral Neurobiology*. San Francisco: Freeman (1976).

R. J. Knox, E. A. Quattrocki, J. A. Connor, and L. K. Kaczmarek. Recruitment of calcium channels during rapid formation of putative neuropeptide release sites in isolated *Aplysia* neurons, *Neuron* 8:883–889 (1992).
E. S. Levitan and I. B. Levitan. Serotonin acting via cyclic AMP enhances both the hyperpolarizing and depolarizing phases of bursting pacemaker activity in the *Aplysia* neuron R15. *J. Neurosci. 8:*1152–1161 (1988).
R. Numann, W. A. Catterall, and T. Scheuer. Functional modulation of brain sodium channels by protein kinase C phosphorylation. *Science 254:*115–118 (1991).
L. A. Raymond, C. D. Blackstone, and R. L. Huganir. Phosphorylation and modulation of recombinant gluR6 glutamate receptors by cAMP dependent protein kinase. *Nature 361:*637–641 (1993).
J. A. Strong, A. P. Fox, R. W. Tsien, and L. K. Kaczmarek. Stimulation of protein kinase C recruits covert calcium channels in *Aplysia* bag cell neurons. *Nature (London) 325:*714–717 (1987).
J. A. Strong and L. K. Kaczmarek. Potassium currents that regulate action potentials and repetitive firing. In *Neuromodulation: The Biochemical Control of Neuronal Excitability*, L. K. Kaczmarek and I. B. Levitan (Eds.). New York: Oxford University Press, pp. 119–137 (1987).
R. W. Tsien. Calcium currents in heart cells and neurons. In *Neuromodulation: The Biochemical Control of Neuronal Excitability,* L. K. Kaczmarek and I. B. Levitan (Eds.). New York: Oxford University Press, pp. 206–242 (1987).
J. W. West, R. Numann, B. J. Murphy, T. Scheuer, and W. A. Catterall. A phosphorylation site in the sodium channel required for modulation by protein kinase C. *Science 254:*866–868 (1991).

13

推荐读物

T. A. Gilbertson. The physiology of vertebrate taste reception. *Curr. Opin. Neurobiol. 3:*532–539 (1993).
J. O. Pickles. *An Introduction to the Physiology of Hearing*. London: Academic Press (1988).
K. J. Ressler, S. L. Sullivan, and L. B. Buck. A molecular dissection of spatial patterning in the olfactory system. *Curr. Opin. Neurobiol. 4:*588–596 (1994).

参考文献

J. J. Art and R. Fettiplace. Variation of membrane properties in hair cells isolated from the turtle cochlea. *J. Physiol. 385:*207–242 (1987).
E. F. Fesenko, S. S. Kolesnikov, and A. L. Lyubarsky. Induction by cyclic GMP of cationic conductance in plasma membrane of retinal rod outer segments. *Nature (London) 313:*310–313 (1985).

L. W. Haynes, A. R. Kay, and K.-W. Yau. Single cyclic GMP-activated channel activity in excised patches of rod outer segment membrane. *Nature (London)* *321*:66–70 (1986).

A. J. Hudspeth and R. S. Lewis. A model for electrical resonance and frequency tuning in saccular hair cells of the bull-frog, *Rana catesbeina*. *J. Physiol.* *400*:275–297 (1988).

S. Kinnamon. Taste transduction: A diversity of mechanisms. *Trends Neurosci.* *11*:491–496 (1988).

R. Kullberg. Stretch-activated ion channels in bacteria and animal cell membranes. *Trends Neurosci.* *10*:387–388 (1987).

T. D. Lamb. Transduction in vertebrate photoreceptors: The roles of cyclic GMP and calcium. *Trends Neurosci.* *9*:224–228 (1986).

J. H. Martin. Somatic sensory system I: Receptor physiology and submodality coding. In *Principles of Neural Science*, E. R. Kandel and J. H. Schwartz (Eds.). New York: Elsevier North Holland, pp. 157–169 (1981).

14

推荐读物

S. Artavanis-Tsakonas, K. Matsuno, and M. E. Fortini. Notch signaling. *Science* *268*:225–232 (1995).

S. S. Easter, K. F. Barald, and B. M. Carlson. *From Message to Mind: Directions in Developmental Neurobiology*. Sunderland, MA: Sinauer Associates (1988).

R. M. Lindsay, S. J. Wiegant, C. A. Altar, and P. S. DiStefano. Neurotrophic factors: From molecules to man. *Trends Neurosci.* *17*:182–190 (1994).

C. J. Marshall. Specificity of receptor tyrosine kinase signalling: Transient versus sustained extracellular regulated kinase activation. *Cell* *80*:179–185 (1995).

D. Purves and J. W. Lichtman. *Principles of Neural Development*. Sunderland, MA: Sinauer Associates (1985).

参考文献

D. Bar-Sagi and J. R. Feramisco. Microinjection of the *ras* oncogene protein into PC12 cells induces morphological differentiation. *Cell* *42*:841–848 (1985).

S. Cowley, H. Paterson, P. Kemp, and C. J. Marshall. Activation of MAP kinase is necessary and sufficient for PC12 differentiation and for transformation of NIH 3T3 cells. *Cell* *77*:841–852 (1994).

T. J. DeVoogt. Androgens can affect the morphology of mammalian CNS neurons in adulthood. *Trends Neurosci.* *10*:341–342 (1987).

R. M. Evans. The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science* *240*:889–895 (1988).

R. A. Gorski. Structural sex differences in the brain: Their origin and significance. In *Neural Control of Reproductive Function*, J. M. Lakoski, J. R. Perez-Polo, and D. K. Rassin (Eds.). New York: Liss, pp. 33–44 (1989).

M. E. Gurney. Hormonal control of cell form and number in the zebra finch song system. *J. Neurosci. 1:658–673* (1981).

M. Jacobson. *Developmental Neurobiology.* New York: Plenum (1978).

H. Kramer, R. L. Cagan, and S. L. Zipursky. Interaction of the *bride of sevenless* membrane bound ligand and the *sevenless* tyrosine kinase receptor. *Nature 352*:207–212 (1991).

R. Nishi. Neurotrophic factors: Two are better than one. *Science 265*:1052–1053 (1994).

F. Nottebohm. From bird song to neurogenesis. *Sci. Am. 260:*74–79 (1989).

P. Rakic. Neuron–glia relationship during ganglion cell migration in developing cerebellar cortex. A Golgi and electron microscopic study in *Macacus rhesus. J. Comp. Neurol. 141:*283–312 (1971).

J. R. Sanes. Roles of extracellular matrix in neural development. *Annu. Rev. Physiol. 45:*581–600 (1983).

15

推荐读物

E. A. Clark and J. S. Brugge. Integrins and signal transduction pathways: The road taken. *Science 268:*233–239 (1995).

J. Dodd and T. M. Jessel. Axon guidance and the patterning of neuronal projections in vertebrates. *Science 242:692–699* (1988).

C.-H. Lin, C. A. Thompson, and P. Forscher. Cytoskeletal reorganization underlying growth cone motility. *Curr. Opin. Neurobiol. 4:*640–647 (1994).

D. D. M. O'Leary. Attractive guides for axons. *Nature 371:*15–16 (1994).

P. Patterson. On the importance of being inhibited, or saying no to growth cones. *Neuron 1:*263–267 (1988).

参考文献

L. I. Benowitz and A. Routtenberg. A membrane phosphoprotein associated with neural development, axonal regeneration, phospholipid metabolism and synaptic plasticity. *Trends Neurosci. 10:*527–532 (1987).

P. Caroni and M. E. Schwab. Antibody against myelin-associated inhibitor of neurite growth neutralizes nonpermissive substrate properties of CNS white matter. *Neuron 1:85–96* (1988).

P. Forscher and S. J. Smith. Actions of cytochalasins on the organization of actin filaments and microtubules in a neuronal growth cone. *J. Cell Biol. 107:*1505–1516 (1988).

A. L. Harrelson and C. S. Goodman. Growth cone guidance in insects: Fasciclin II is a member of the immunoglobulin superfamily. *Science 242:*700–708 (1988).

P. G. Haydon, D. P. McCobb, and S. B. Kater. Serotonin selectively inhibits growth cone dynamics and synaptogenesis of specific identified neurons. *Science 226:*561–564 (1984).

A. L. Kolodkin, D. M. Matthes, and C. S. Goodman. The *semaphorin* genes encode a family of transmembrane and secreted growth cone guidance molecules. *Cell 75*:1389–1399 (1993).

P. C. Letourneau. Fibronectin. In *Neuroscience Year*, G. Adelman (Ed.). Boston: Birkhauser, pp. 61–62 (1989).

L. Luckenbill-Edds. Laminin. In *Neuroscience Year*, G. Adelman (Ed.). Boston: Birkhauser, pp. 89–91 (1989).

M. Matsunaga, K. Hatta, A. Nagafuchi, and M. Takeichi. Guidance of optic nerve fibers by N-cadherin cell adhesion molecules. *Nature (London) 334*:62–64 (1988a).

M. Matsunaga, K. Hatta, and M. Takeichi. Role of N-cadherin cell adhesion molecules in the histogenesis of neural retina. *Neuron 1*:289–295 (1988b).

S. Popov, A. Brown, and M.-M. Poo. Forward plasma membrane flow in growing nerve processes. *Science 259*:244–246 (1993).

D. Purves and R. D. Hadley. Changes in the dendritic branching of adult mammalian neurones revealed by repeated imaging *in situ*. *Nature (London) 315*:404–406 (1985).

U. Rutishauser, A. Acheson, A. K. Hall, D. M. Mann, and J. Sunshine. The neural cell adhesion molecule (NCAM) as a regulator of cell–cell interactions. *Science 240*:53–57 (1988).

T. Serafini, T. E. Kennedy, M. J. Galko, C. Mirzayan, T. M. Jessell, and M. Tessier-Lavigne. The netrins define a family of axon outgrowth-promoting proteins homologous to *C. elegans* UNC-6. *Cell 78*:409–424 (1994).

M. Westerfield and J. S. Eisen. Neuromuscular specificity: Pathfinding by identified motor growth cones in a vertebrate embryo. *Trends Neurosci. 11*:18–22, 1988.

16

推荐读物

M. Constantine-Paton, H. T. Cline, and E. Debski. Patterned activity, synaptic convergence, and the NMDA receptor in developing visual pathways. *Annu. Rev. Neurosci. 13*:129–154 (1990).

C. S. Goodman and C. J. Shatz. Developmental mechanisms that generate precise patterns of neuronal connectivity. *Cell 71/Neuron 10* (Suppl.): 77–98 (1993).

Z. W. Hall and J. R. Sanes. Synaptic structure and development: The neuromuscular junction. *Cell 71/Neuron 10* (Suppl.): 99–121 (1993).

W. A. Harris and C. E. Holt. From tags to RAGS: Chemoaffinity finally has receptors and ligands. *Neuron 15*:241–244 (1995).

D. Purves and J. W. Lichtman. *Principles of Neural Development*. Sunderland, MA: Sinauer Associates (1985).

参考文献

E. D. Apel, S. L. Roberds, K. P. Campbell, and J. P. Merlie. Rapsyn may function as a link between the acetylcholine receptor and the agrin-binding dystrophin-associated glycoprotein complex. *Neuron 15:*115–126 (1995).

S. Bevan and J. H. Steinbach. The distribution of α-bungarotoxin binding sites on mammalian skeletal muscle developing *in vivo. J. Physiol. 267:*195–213 (1977).

A. J. Buller, J. C. Eccles, and R. M. Eccles. Interactions between motoneurons and muscles in respect of the characteristic speed of their responses. *J. Physiol. 150:*417–439 (1960).

M. Constantine-Paton and M. I. Law. Eye-specific termination bands in tecta of three-eyed frogs. *Science 202:639–*641 (1978).

Y. Dan and M.-M. Poo. Hebbian depression of isolated neuromuscular synapses in vitro. *Science 256:*1570–1573 (1992).

P. Forscher, L. K. Kaczmarek, J. Buchanan, and S. J. Smith. Cyclic AMP induces changes in distribution of organelles within growth cones of *Aplysia* bag cell neurons. *J. Neurosci. 7:*3600–3611 (1987).

H. Fujisawa. Persistence of disorganized pathways on tortuous trajectories of regenerating retinal fibers in the adult newt *Cynops pyrrhogaster. Dev. Growth Differ. 23:*215–219 (1981).

D. O. Hebb. *The Organization of Behavior.* New York: Wiley (1949).

D. D. Hunt, V. Shah, J. P. Merlie, and J. R. Sanes. A laminin-like adhesive protein concentrated in the synaptic cleft of the neuromuscular junction. *Nature (London) 338:*229–234 (1989).

S. P. Hunt, A. Pini, and G. Evan. Induction of c-*fos*-like protein in spinal cord neurons following sensory stimulation. *Nature (London) 328:*632–634 (1987).

S. A. Jo, X. Zhu, M. A. Marchionni, and S. J. Burden. Neuregulins are concentrated at nerve–muscle synapses and activate Ach-receptor gene expression. *Nature 373:*158–162 (1995).

Y.-J. Lo and M.-M. Poo. Activity-dependent synaptic competition in vitro: Heterosynaptic suppression of developing synapses. *Science* 254:1019–1022 (1992).

L. M. Marshall, J. R. Sanes, and U. J. McMahan. Reinnervation of original synaptic sites on muscle fiber basement membrane after disruption of the muscle cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 74:*3073–3077 (1977).

J. T. Morgan and T. Curran. Stimulus-transcription coupling in neurons: Role of cellular immediate-early genes. *Trends Neurosci. 12:*459–462 (1989).

S. Salmons and F. A. Streter. Significance of impulse activity in the transformation of skeletal muscle type. *Nature (London) 263:*30–34 (1976).

J. R. Sanes. Cell lineage and the origin of muscle fiber types. *Trends Neurosci. 10:*219–221 (1987).

R. W. Sperry. Chemoaffinity in the orderly growth of nerve fiber patterns and connections. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 50:*703–710 (1963).

D. Trisler and F. Collins. Corresponding spatial gradients of TOP molecules in the developing retina and optic tectum. *Science 237*:1208–1209 (1987).

J. Walter, S. Henke-Fahle, and F. Bonhoeffer. Avoidance of posterior tectal membranes by temporal retinal axons. *Development 101*:909–913 (1987).

17

推荐读物

P. A. Getting. Emerging principles governing the operation of neural networks. *Annu. Rev. Neurosci. 12*:185–204 (1989).

S. Grillner and T. Matsuchima. The neural network underlying locomotion in lamprey—synaptic and cellular mechanisms. *Neuron 7*:1–15 (1991).

参考文献

P. D. Brodfuehrer and W. O. Friesen. From stimulation to undulation: A neuronal pathway for swimming in the leech. *Science 234*:1002–1004 (1986).

P. J. Conn and L. K. Kaczmarek. The bag cell neurons: A model system for the investigation of prolonged changes in animal behavior. *Mol. Neurobiol. 3*:237–273 (1990).

W. J. Davis. Behavioral hierarchies. *Trends Neurosci. 2*:5–7 (1979).

P. S. Dickinson and E. Marder. Peptidergic modulation of a multioscillator system in the lobster. I. Activation of the cardiac sac motor pattern by the neuropeptides proctolin and red pigment-concentrating hormone. *J. Neurophysiol. 61*:833–844 (1989).

W. O. Friesen. Neuronal control of leech swimming movements. In *Neuronal and Cellular Oscillators*, J. W. Jacklet (Ed.). New York: Dekker, pp. 269–316 (1989).

S. Grillner, A. El Manira, J. Tegner, T. Wadden, L. Vinay, and J.-Y. Barthe. Dynamic changes in functional connectivity in a lower vertebrate model. In *Cellular and Molecular Mechanisms Underlying Higher Neural Functions*, A. I. Selverston and P. Ascher (Eds.). New York: Wiley, pp. 125–147 (1994).

R. M. Harris-Warrick and R. E. Flamm. Chemical modulation of a small central pattern generator. *Trends Neurosci. 9*:432–437 (1986).

L. K. Kaczmarek. A model of cell firing patterns during epileptic seizures. *Biol. Cybernet. 22*:229–234 (1976).

M. Moulins and F. Nagy. Extrinsic inputs and flexibility in the motor output of the lobster pyloric neural network. In *Model Neural Networks and Behavior*, A. I. Selverston (Ed.). New York: Plenum, pp. 49–68 (1985).

M. P. Nusbaum and E. Marder. A modulatory proctolin-containing neuron (MPN). II. State-dependent modulation of rhythmic motor activity. *J. Neurosci. 9*:1600–1607 (1989).

R. A. Satterlie. Reciprocal inhibition and postinhibitory rebound produce reverberation in a locomotor pattern generator. *Science 229*:402–404 (1985).

R. A. Satterlie, M. LaBarbara, and A. N. Spencer. Swimming in the pteropod mollusc *Clione limacina*. I. Behavior and morphology. *J. Exp. Biol. 116*:189–204 (1985).

A. I. Selverston. *Model Neural Networks and Behavior*. New York: Plenum (1985).

G. S. Stent, W. B. Kristan, W. O. Friesen, C. A. Ort, M. Poon, and R. L. Calabrese. Neuronal generation of the leech swimming movement. *Science 200*:1348–1357 (1978).

18

推荐读物

C. H. Bailey and E. R. Kandel. Structural changes accompanying memory storage. *Ann. Rev. Physiol. 55*:397–426 (1993).

C. A. Barnes. Involvement of LTP in memory: Are we searching under the streetlight? *Neuron 15*:751–754 (1995).

Y. Dudai. *The Neurobiology of Memory: Concepts, Findings, Trends*. New York: Oxford University Press (1989).

D. A. Frank and M. E. Greenberg. CREB: A mediator of long-term memory from molluscs to mammals. *Cell 79*:5–8 (1994).

R. J. Greenspan. Flies, genes, learning and memory. *Neuron 15*:747–750 (1995).

D. M. Kullmann and S. A. Siegelbaum. The site of expression of NMDA receptor-dependent LTP: New fuel for an old fire. *Neuron 15*:997–1002 (1995).

A. U. Larkman and J. B. Jack. Synaptic plasticity: Hippocampal LTP. *Curr. Opin. Neurobiol. 5*:324–334 (1995).

L. R. Squire. *Memory and Brain*. New York: Oxford University Press (1987).

参考文献

B. W. Agranoff, R. E. Davis, and J. J. Brink. Memory fixation in the goldfish. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 54*:788–793 (1965).

M. F. Bear and R. C. Malenka. Synaptic plasticity: LTP and LTD. *Curr. Opin. Neurobiol. 4*:389–399 (1994).

T. V. P. Bliss and T. Lomo. Long lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J. Physiol. 232*:331–356 (1973).

J. DeZazzo and T. Tully. Dissection of memory formation: From behavioral pharmacology to molecular genetics. *Trends Neurosci. 18*:212–218 (1995).

E. R. Kandel. *Behavioral Biology of Aplysia*. San Francisco: Freeman (1979).

E. R. Kandel and J. H. Schwartz. Molecular biology of learning: modulation of transmitter release. *Science 218*:433–443 (1982).

K. S. Lashley. In search of the engram. *Soc. Exp. Biol. Symp. 4*:454–482 (1950).

J. E. Lisman and M. A. Goldring. Feasibility of long-term storage of graded information by the Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinase molecules of the postsynaptic density. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85*:5320–5324 (1988).

R. C. Malenka, J. A. Kauer, D. J. Perkel, and R. A. Nicoll. The impact of postsynaptic calcium on synaptic transmission: Its role in long-term potentiation. *Trends Neurosci. 12*:444–450 (1989).

R. A. Nicoll, J. A. Kauer, and R. C. Malenka. The current excitement in long-term potentiation. *Neuron 1*:97–103 (1988).

C. F. Stevens and I. Verma. A model with good CREdentials. *Curr. Biol. 4*:736–738 (1994).

T. Tully. *Drosophila* learning and memory revisited. *Trends Neurosci. 10*:330–335 (1987).

英、中文名词对照索引

(按字母排列,后面数字为本书页码)

中、英文名词对照索引

（按拼音排列，后面数字为本书页码）